

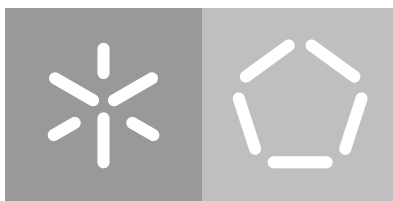
Universidade do Minho

Escola de Engenharia

Daniel Filipe Braga de Oliveira

**Plataforma online para caracterizar
comunidades microbianas de
estações de tratamento de água e efluentes**

Janeiro 2017



Universidade do Minho

Escola de Engenharia

Daniel Filipe Braga de Oliveira

**Plataforma online para caracterizar
comunidades microbianas de
estações de tratamento de água e efluentes**

Dissertação de mestrado em Bioinformática

Trabalho realizado sob orientação de

Doutora Daniela Patrícia Bernardino Mesquita

Professor Doutor Eugénio Manuel de Faria Campos Ferreira

Janeiro 2017

AGRADECIMENTOS

À Professora Doutora Daniela Mesquita e ao Professor Doutor Eugénio Ferreira, por aceitarem ser meus orientadores e pela oportunidade concedida para a realização desta dissertação. Quero agradecer toda a disponibilidade, empenho, compreensão e dedicação demonstrada para ajudar a superar as minhas principais dificuldades, assim como toda a sabedoria e conselhos partilhados ao longo deste trabalho. Apesar dos obstáculos que foram surgindo na realização desta dissertação, foram sempre uma fonte de motivação e de força para seguir em frente.

Ao Professor Doutor Luís Amaral, por ter desenvolvido o pilar da minha dissertação, e pelas suas publicações.

Ao Pedro Coutinho, pela disponibilidade e ajuda a superar os obstáculos durante o desenvolvimento da componente prática.

À Rafa, por ser mais do que minha namorada, por toda a paciência em me aturar durante os últimos sete anos e por acompanhar de perto a minha evolução profissional. Se há alguém a quem eu devo por terminar esta etapa da vida, esse alguém és tu.

Aos meus pais por serem os pilares da minha vida, pela transmissão de valores e por incentivarem a estudar, a vocês devo tudo o que sou.

Ao meu irmão, por ter carregado a “cruz” de ser o irmão mais velho. E também à minha cunhada Mónica e à minha futura sobrinha Maria que embora sejam elementos recentes da família, são muito importantes na minha vida.

Aos meus avós, em especial ao meu avô José Braga, que apesar de não ter estado presente no último mês desta etapa, sei o orgulho que iria sentir por a ver terminada. Aos meus segundos pais, agradeço por terem passado os valores da educação e da família.

À Raquel Silva, pela amizade que construímos durante os últimos anos, pela ajuda e cooperação durante todo o meu percurso académico.

Aos meus amigos da “terrinhã”: Ana Paula, Cardoso, Carlos, Vasco, Joana Cardoso, João António, Lemos, Nuno, Pedro, Russo, Vita, Toni, Pedro Gomes, João Guimarães, pelos momentos que passamos e sem dúvida pela amizade que dura há anos.

À Lita, à Na e ao Miguel, por terem sido muito mais do que simples companheiros de casa, por serem a minha família da “Bila”.

Ao João Agostinho, por todos os momentos que passamos ao longo destes anos.

Aos meus padrinhos, tios e primos um grande obrigado pelo apoio durante toda as fases da minha vida.

À família da Rafa, por serem uma segunda família para mim e por sentir-me em casa sempre que estou em Amarante.

A todos os meus colegas de mestrado, em especial para o Jorge Reis, Daniel Varzim, Tiago Alves e Nuno Osório, pela amizade, cooperação e sem dúvida os momentos que passamos juntos.

Ao Sebastião, por ser mais que um simples cão e ser um amigo que acompanhou todo o meu percurso académico.

ABSTRACT

Wastewater Treatment Plants that use the activated sludge system are characterized by being a complex ecosystem, responsible for the treatment of waste water, through biological processes that metabolize organic and inorganic substances into products that are more environmentally tolerable . The microorganism's community of this system requires close monitoring and control, using regular microscopic inspections to avoid economic losses and environmental damage caused by unbalanced bacterial populations.

The technological innovation of the last decades has allowed the monitoring by computers that was previously carried out by a human operator. "Flocs and Filaments" is a software that can morphologically analyse the bacterial populations with the treatment of one or more digital grayscale images, acquired from laboratory reactors or Wastewater Treatment Plants.

In this master's dissertation, an online platform was built, which integrated the "Flocs and Filaments" software, previously optimized and compiled. The platform allows the monitoring of this biological process, being accessible through mobile devices and computers.

Keywords: Wastewater treatment plants, Activated sludge; Image analysis.

RESUMO

As Estações de Tratamento de Águas Residuais que utilizam o sistema de lamas ativadas caracterizam-se por serem um complexo ecossistema, responsável pelo tratamento de águas residuais, através de processos biológicos que metabolizam substâncias orgânicas e inorgânicas em produtos mais toleráveis a nível ambiental. A comunidade de microrganismos desse sistema requer uma apertada monitorização e controlo, recorrendo a inspeções regulares por microscopia para evitar perdas económicas e danos ambientais provocados por populações bacterianas que não estejam balanceadas.

A inovação tecnológica das últimas décadas permitiu que a monitorização que era realizada através de um operador humano, passasse a ser desempenhada por computadores, através por exemplo de programas como o "Flocos e Filamentos" que consegue analisar morfológicamente as populações bacterianas com o tratamento de uma ou mais imagens digitais *grayscale 8 bits*, adquiridas de reatores laboratoriais ou Estações de Tratamento de Águas Residuais.

Nesta dissertação de mestrado, foi construída uma plataforma online, que integrou o programa "Flocos e Filamentos" otimizado e compilado. A plataforma permite facilitar a monitorização deste processo biológico, sendo acessível através de dispositivos móveis e computadores.

Palavas-Chave: Estações de Tratamento de Águas Residuais, Lamas ativadas, Análise de Imagem.

CONTEÚDO

Agradecimentos	i
Abstract	iii
Resumo	iv
Lista de figuras	vii
Lista de tabelas	ix
Lista de Abreviaturas	x
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Contexto	1
1.2 Objetivos	2
2 ESTADO DA ARTE	4
2.1 Lamas ativadas	4
2.2 Problemas das lamas ativadas	5
2.2.1 Crescimento disperso	5
2.2.2 Formação de espuma	5
2.2.3 <i>Bulking</i> viscoso ou zoogleal	6
2.2.4 Flocos <i>pin point</i>	6
2.2.5 <i>Bulking</i> Filamentoso	7
2.3 Monitorização de lamas ativadas	8
2.3.1 Imagem digital	9
2.3.2 Aquisição de imagem digital	9
2.3.3 Processamento da imagem digital	9
2.4 Plataforma online para caracterizar comunidades microbianas de ETARs	10
2.4.1 <i>Bootstrap</i> [®]	10
2.5 ASP.NET [®] MVC	12
2.5.1 Model-View-Controller	12
2.5.2 Linguagem C Sharp (C#)	13
2.6 MATLAB [®]	14
2.6.1 MATLAB [®] Compiler	14
2.7 Programas "Flocos e Filamentos" e "Parâmetros"	14
2.7.1 "Flocos e Filamentos"	15
2.7.2 "Parâmetros"	16
2.7.3 Parâmetros morfológicos	18
3 MATERIAIS E MÉTODOS	22

3.1	Adaptação dos programas “Flocos e Filamentos” e “Parâmetros”	22
3.1.1	Compilação do programa “Flocos e Filamentos”	25
3.2	Base de dados	25
3.3	Criação da plataforma online	28
3.3.1	Página de entrada	28
3.3.2	Página de registo de utilizadores	29
3.3.3	Página de login de utilizadores	30
3.3.4	Área do utilizador	31
3.4	Componentes utilizados	38
3.4.1	“Bootstrap Carousel”	38
3.4.2	Chartjs	38
3.4.3	Bootstrap Datepicker	39
3.4.4	DataTables	40
4	CASO DE ESTUDO E PUBLICAÇÃO DA PLATAFORMA ONLINE	42
4.1	Caso de estudo	42
4.2	Otimização da plataforma online	47
4.3	Publicação da plataforma online	47
5	CONCLUSÕES E TRABALHO FUTURO	49

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Fenómeno de crescimento disperso em LA [1].	5
Figura 2	Fenómeno de <i>bulking</i> viscoso em LA [1].	6
Figura 3	Fenómeno de flocos <i>pin point</i> em LA [1].	7
Figura 4	Fenómeno de <i>bulking</i> filamentososo em LA [1].	8
Figura 5	Imagens obtidas pelo processamento do programa “Flocos e Filamentos”. (A) Imagem original; (B) Delimitação da fronteira de objetos; (C) Imagem dos flocos; (D) Imagem dos filamentos.	10
Figura 6	<i>Market share</i> de vendas de dispositivos informáticos [2].	12
Figura 7	Comunicação entre as classes <i>Model</i> , <i>View</i> e <i>Controller</i> (adaptado de [3]).	13
Figura 8	<i>Graphical User Interface</i> do programa “Flocos e Filamentos”.	15
Figura 9	<i>Graphical User Interface</i> do programa “Parâmetros”.	17
Figura 10	Representação do cálculo do diâmetro equivalente no floco (Imagem processada pela plataforma online).	19
Figura 11	Representação da caixa fronteira no floco (Imagem processada pela plataforma online).	20
Figura 12	Exemplo de ficheiro texto (“.txt”) para leitura pela função “ <i>main.m</i> ”.	22
Figura 13	Estrutura de um <i>struct array</i> em MATLAB®.	23
Figura 14	Exemplo de dois <i>struct arrays</i> criados através da leitura do ficheiro texto.	23
Figura 15	Esquema de entradas e saídas do programa “Flocos e Filamentos”.	24
Figura 16	Esquema relacional da base de dados da plataforma online.	26
Figura 17	Página de entrada da plataforma online.	28
Figura 18	Página para efetuar registo de novos utilizadores.	29
Figura 19	Página para efetuar <i>login</i> de utilizadores já registados.	30
Figura 20	Página para criar uma ETAR/Reator.	31
Figura 21	Página “ <i>Dashboard</i> ” sem pedidos de análise de imagem.	32
Figura 22	Página “ <i>Request analysis</i> ”	33
Figura 23	Página “ <i>Dashboard</i> ” com pedido de análise de imagem.	34
Figura 24	Página “ <i>Edit</i> ”.	35
Figura 25	Página “ <i>Details</i> ”.	35
Figura 26	Página “ <i>Results by WWTP/Reactor</i> ”.	36
Figura 27	Página “ <i>Results</i> ”.	37

Figura 28	<i>Bootstrap Carousel</i> utilizado para apresentar as imagens tratadas.	38
Figura 29	Gráfico exportado pela plataforma da variação da área total dos flocos ao longo do tempo.	39
Figura 30	Componente <i>Bootstrap Datepicker</i> utilizado na página <i>Request analysis</i> .	40
Figura 31	Componente <i>DataTables</i> apresentado na página “ <i>Results by WWT-P/Reactor</i> ”.	41
Figura 32	Marca de água com logótipo do CEB na folha de impressão da tabela.	41
Figura 33	Ficheiro <i>PDF</i> da tabela com logótipo do CEB.	41
Figura 34	Monitorização da CA, F/M, SST para E1 (a) e E2 (b).	43
Figura 35	Monitorização da CQO <i>in</i> , CQ <i>out</i> e IVL para E1 (a) e E2 (b).	43
Figura 36	Monitorização do N-NH ₄ + <i>in</i> , N-NH ₄ + <i>out</i> , N-NO ₃ - <i>out</i> para E1 (a) e E2 (b).	44
Figura 37	Monitorização da % área de flocos pequenos, médios e grandes para E1 (a) e E2 (b).	45
Figura 38	Monitorização do CF/Vol e AT/Vol para E1 (a) e E2 (b).	45
Figura 39	Resultados para a Área Total VS Tempo para E1 (a) e E2 (b).	46
Figura 40	Resultados para o Comprimento total dos filamentos VS Tempo para E1 (a) e E2 (b).	46
Figura 41	Plataforma compilada e pronta para ser instalada no servidor	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Funcionalidades dos submenus do programa “ <i>Flocos e Filamentos</i> ”.	16
Tabela 2	Resultados obtidos pelo programa “Parâmetros”	18
Tabela 3	Funcionalidades dos submenus do programa “Parâmetros”.	18
Tabela 4	Metodologia de obtenção de parâmetros morfológicos.[4, 5]	21
Tabela 5	Nome das tabelas da base de dados com a sua função explicada.	25
Tabela 6	Tipo de erros possíveis validados por algoritmos javascript e respectivos alertas presentes na página “ <i>Request analysis</i> ”.	33

LISTA DE ABREVIATURAS

BMP	Windows Bitmap
C#	C Sharp
CEB	Centro de Engenharia Biológica
CO₂	Dióxido de carbono
CQO	Carência química de oxigénio
CSS	Cascading Style Sheets
ETAR	Estação de tratamento de águas residuais
HTML	HyperText Markup Language
IVL	Índice volumétrico de lamas
JPEG	Joint Photographic Experts Group
LA	Lamas ativadas
MVC	Model–View–Controller
N-NH₄	Azoto amoniacal
NO₃	Nitrato
O₂	Oxigénio
OD	Oxigénio dissolvido
SQL	Structured Query Language
SST	Sólidos suspensos totais
TIF	Tagged Image File Format

INTRODUÇÃO

1.1 CONTEXTO

A espécie humana, devido às suas necessidades fisiológicas, fixou-se próxima de fontes de água. Com a revolução industrial e o subsequente aumento da população, houve um aumento de descargas de águas residuais e efluentes nesses recursos hídricos. Consequentemente a essas descargas surgiram episódios como o “*Great Stink*” no verão de 1858, no rio Tamisa em Londres, que devido à redução do caudal do rio e ao alto nível de poluição das águas, levou a problemas de mau cheiro degradando a qualidade de vida da metrópole. A solução encontrada nessa altura foi deslocar as descargas através de um sistema de saneamento para fora da cidade, e assim, evitar o mau cheiro do rio e diminuir o risco de doenças infecciosas como cólera, febre tifoide, entre outras [6]. Essa solução, em termos ambientais, não resolvia a poluição das águas do rio Tamisa, apenas a deslocava de local [7]. Só em 1914 é que surgiu o primeiro protótipo para uma estação de tratamento de águas residuais (ETAR) com o sistema de lamas ativadas (LA), através de um sistema desenhado por Arden e Lockett. Com este protótipo foi possível reduzir a poluição de águas residuais em menos de 24 horas, permitindo que fosse economicamente viável a sua implementação à escala mundial. Já nesse tempo Arden e Lockett referiam a importância de monitorização deste processo, uma vez que este era influenciado por vários factores como a temperatura e o pH [8, 9].

A partir de 1914 o número de ETARs com sistema de LA aumentaram drasticamente no Reino Unido e Estados Unidos da América, com especial atenção para o caso dos Estados Unidos da América que entre 1924 e 1928 viu crescer a um nível exponencial a sua capacidade de tratamento de águas através deste sistema [8]. Em Portugal, o saneamento de águas residuais começou a ser discutido na transição do século XIX para o XX, contudo pouco avançou até 1970 devido a problemas financeiros e políticos, como a bancarrota de 1892 e a Implantação da República Portuguesa em 1910. Em 1972 apenas 17% da população tinha acesso à rede de esgotos. Com este enorme atraso em relação aos restantes países europeus, Portugal viu-se perante um surto de cólera na véspera da Revolução de Abril (25 de Abril 1974) que rapidamente se propagou a várias cidades de todo país, registando-se

2371 ocorrências e 41 mortes. Com a entrada de Portugal na comunidade europeia surgiu um drástico desenvolvimento nesta área, e em 2014, o saneamento chegou a quase todas as zonas do país com uma percentagem de 85 a 90% das habitações. No que diz respeito ao tratamento de águas residuais, a meta dos 90% ainda não foi cumprida, ficando nos 79%. Contudo a qualidade da água dos rios, estuários e zonas balneares tem vindo a aumentar, como se pode verificar com o aumento da população de peixes nos rios Tejo e Ave que eram considerados há décadas como rios “mortos”, assim como, com o aumento das bandeiras azuis das praias [10].

As ETARs com sistema de LA caracterizam-se por serem um complexo ecossistema, responsável pelo tratamento de águas residuais e efluentes, através de processos biológicos que metabolizam substâncias orgânicas e inorgânicas em produtos mais toleráveis a nível ambiental. A comunidade de microrganismos desse sistema requer uma apertada monitorização e controlo, recorrendo a inspeções regulares por microscopia de forma a evitar perdas económicas e danos ambientais provocados por populações bacterianas que não estejam balanceadas [11, 12]. Atendendo que este processo foi sempre atualizado com novas tecnologias, sente-se que é tempo para que a monitorização deste seja feita por uma plataforma online que ajude na caracterização das comunidades microbianas das ETARs, através do carregamento de imagens das populações microbianas.

1.2 OBJETIVOS

O objetivo principal deste trabalho é criar uma plataforma online para incorporação dos programas “Flocos e Filamentos” e “Parâmetros” desenvolvidos no Centro de Engenharia Biológica (CEB) da Universidade do Minho pelo Doutor Luís Amaral [4, 13]. De um modo geral é necessário cumprir os seguintes passos:

- Compilar o código do programa “Flocos e Filamentos” para uma *Standalone Application*;
- Criação de uma base de dados *Structured Query Language (SQL) Server* para utilizadores e respetivos dados de utilização;
- Construção de um *website* na linguagem *ASP.NET* que permita:
 1. Registo de novos utilizadores;
 2. Login de utilizadores;
 3. Comunicação entre a *Standalone Application* do programa “Flocos e Filamentos” e o *website*;
 4. Criação de espaço para os utilizadores poderem enviar imagens para análise e receber resultados das imagens analisadas;

5. Espaço para os utilizadores conseguirem visualizar resultados em função do tempo e ETAR;
6. Alojamento do *website*.

ESTADO DA ARTE

2.1 LAMAS ATIVADAS

O sistema de LA é um processo biológico de tratamento de efluentes e águas residuais muito utilizado em ETARs municipais e industriais. O seu principal objetivo é metabolizar compostos orgânicos e inorgânicos em substâncias toleráveis para o ambiente. Este processo de tratamento engloba dois sistemas unitários: um reator biológico arejado e um clarificador de gravidade. O reator biológico arejado contém lamas ativadas, responsáveis pela eliminação e transformação dos poluentes. O oxigénio (O_2) presente no reator tem especial importância para satisfazer as necessidades em oxigénio das bactérias aeróbias responsáveis pela formação de dióxido de carbono (CO_2) e biomassa celular. O O_2 é ainda essencial para a oxidação do amónio (NH_4^+) em nitrato (NO_3^-). O clarificador de gravidade permite a decantação das LA provocando a separação entre a fase líquida e a biomassa celular, obtendo-se um efluente tratado separado das LA que normalmente são reaproveitadas na unidade anterior [1, 14].

Os reatores descontínuos sequenciais, utilizam apenas um tanque onde acontecem todas as fases do processo: enchimento, reação, sedimentação, descarga e paragem [15, 16, 17, 18, 19]. Este sistema tem uma grande vantagem em relação ao sistema de LA convencional, uma vez que ocupa uma área inferior, podendo ser instalado em sítios com limitação de espaço, como é o caso da indústria do papel e têxtil [16].

O estudo de Akin permitiu revelar o facto de ser possível monitorizar e controlar o processo biológico pela *internet*, através do controlo de parâmetros como o pH, o oxigénio dissolvido (OD) e o potencial de oxidação-redução. Com este estudo, foi possível concluir que a leitura conjunta dos parâmetros pH e potencial de oxidação-redução permitem explicar na íntegra o processo biológico. Este estudo permitiu ainda concluir, que a monitorização do OD consegue controlar a absorção de fósforo e nitrificação em condições aeróbias [19].

Os valores de pH do reator estão relacionados com o crescimento da população microbiana e suas reações [19, 20]. O aumento do pH no reator está relacionado com a amonificação, enquanto que a desnitrificação o diminui [19].

O potencial de oxidação-redução permite monitorizar variações dos parâmetros orgânicos e inorgânicos do sistema, como por exemplo: a concentração de OD que indica o excesso ou falta de arejamento, a remoção de compostos como azoto [21], e a carga elevada de nutrientes [19, 20].

2.2 PROBLEMAS DAS LAMAS ATIVADAS

2.2.1 *Crescimento disperso*

Os microrganismos crescem dispersamente em pequenos flocos ou isolados, formando um efluente turvo onde não existe decantação das lamas, como pode-se verificar na figura 1. Ainda se sabe pouco sobre as causas deste problema, mas pensa-se que estão associadas com a introdução de bactérias não floculantes de elevado nível de crescimento, com a presença de componentes químicos dos efluentes, como é o caso da presença de tensioativos que fazem parte da constituição de champôs e pasta de dentes, e com as elevadas concentrações de cátions monovalentes (exemplo, Na^+ e K^+) em relação às concentrações dos divalentes (exemplo, Mg^{2+} e Ca^{2+})[1, 22].

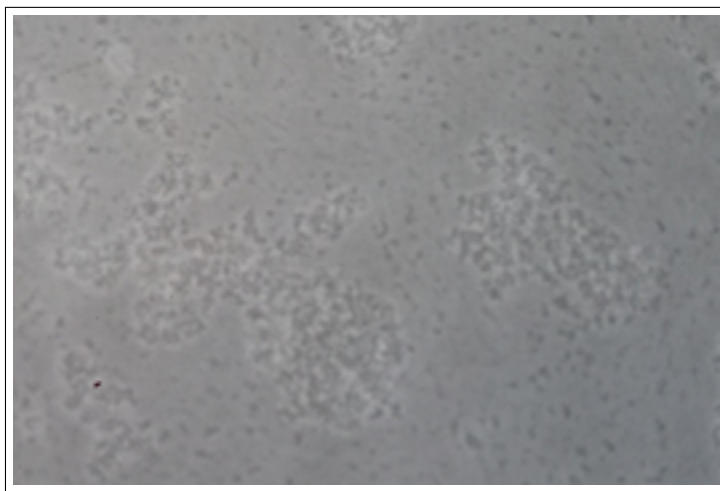


Figura 1: Fenómeno de crescimento disperso em LA [1].

2.2.2 *Formação de espuma*

A formação de espumas na superfície da ETAR pode ser causada por surfactantes e por bactérias, nomeadamente, bactérias do género *Nocardia* spp., *Microthrix parvicella*, e menos frequentemente por bactérias filamentosas do tipo 1863. Os agentes *M. parvicella* e nocardioformes possuem propriedades hidrofóbicas podendo incorporar bolhas de ar presentes

no reator. Caso as suas populações sejam significativamente grandes, podem agregar-se a flocos que por serem menos densos do que a água sobem à superfície formando lamas espessas e acastanhadas. Este problema é difícil de remover mecanicamente, podendo levar à saída destas espumas pela periferia do reator [1].

2.2.3 *Bulking viscoso ou zooglear*

O *bulking* viscoso é caracterizado por lamas de consistência viscosa, uma vez que os microrganismos apresentam grandes quantidades de material extracelular. Este problema reduz a sedimentação das LA e os níveis de compactação [1]. Na figura 2, é possível verificar um problema de *bulking* viscoso.

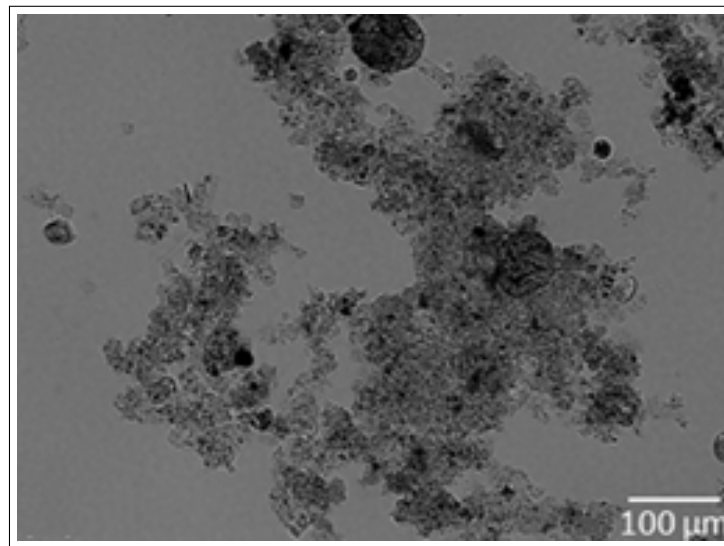


Figura 2: Fenómeno de *bulking* viscoso em LA [1].

2.2.4 *Flocos pin point*

Os flocos *pin point*, caracterizam-se por flocos circulares compactos de pequenas dimensões ($<70 \mu m$). Estes resultam da má formação de flocos que por ação da turbulência do reator não resistem às forças mecânicas e fragmentam-se. Este fenómeno diminui a sedimentação e cria um sobrenadante turvo [1]. Na figura 3, pode-se verificar um problema de flocos *pin point*.

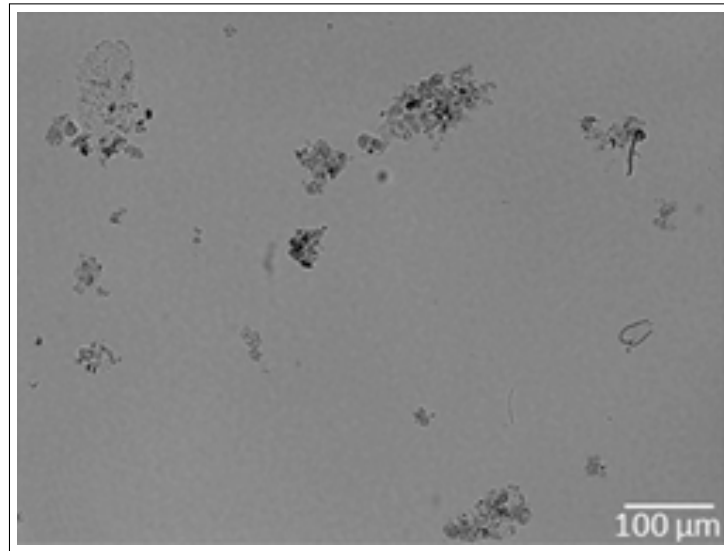


Figura 3: Fenómeno de flocos *pin point* em LA [1].

2.2.5 *Bulking Filamentoso*

O fenómeno *bulking* filamentoso é caracterizado pela extrema abundância de organismos filamentosos, como se pode verificar na figura 4. Estes microrganismos ligam-se a flocos, interferindo com a sedimentação, compactação e densidade das LA. Quando as LA produzidas por este fenómeno sedimentam, verifica-se a formação de um sobrenadante muito claro, uma vez que os microrganismos filamentosos retiram as pequenas partículas responsáveis pela turbidez do sobrenadante [1].

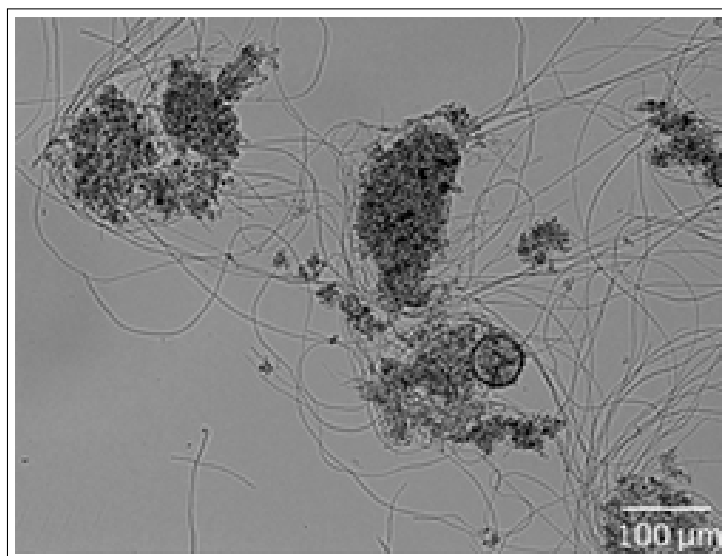


Figura 4: Fenómeno de *bulking* filamentoso em LA [1].

2.3 MONITORIZAÇÃO DE LAMAS ATIVADAS

A monitorização do sistema de LA é realizada como um protocolo de rotina das ETARs e é feita essencialmente com o auxílio de instrumentos de ampliação de objetos, como a microscopia ótica. Este protocolo de rotina permite poupar custos desnecessários de manutenção da ETAR, riscos ambientais e aumenta a eficiência do sistema [14, 23].

A eficiência do sistema de LA está ligada a diversos factores como por exemplo: o equilíbrio entre as populações bacterianas formadoras de flocos e bactérias filamentosas, morfologia das bactérias, factores físicos e factores químicos [14]. A morfologia dos flocos é avaliada através da forma, estrutura e solidez.

Sistemas com flocos de formas irregulares e fracos podem resultar do fornecimento de oxigénio no tanque de arejamento e presença de bactérias filamentosas e estão relacionados com baixas velocidades de sedimentação das LA [14]. Os problemas associados às LA's indicados na secção anterior podem resultar de défices de nutrientes, fornecimento de oxigénio e níveis de substâncias orgânicas [14].

A inovação tecnológica das últimas décadas permitiu que a monitorização que era realizada através de um operador humano, passasse a ser desempenhada por computadores. Esta inovação tornou-se viável devido ao surgimento de imagens digitais, decréscimo do preço e aumento de características de componentes eletrónicos como máquinas digitais, computadores e por sua vez *software* [13, 14, 24].

2.3.1 Imagem digital

As imagens digitais são compostas por uma matriz de pixéis de M (linhas) \times N (colunas). Cada pixel aloja a informação relativa a um valor de brilho e o seu tamanho está dependente do número de sensores da câmara utilizada para a sua obtenção [25]. O número de *bits* está dependente do tipo de imagem, se for uma imagem digital *greyscale* (preto e branco) a imagem tem 8 *bits* e apresenta 256 possíveis valores de brilho para cada pixel. Uma imagem com cor apresenta 8 *bits* para cada parâmetro do canal *Red*, *Green* e *Blue* (RGB), correspondendo a uma imagem de 24 *bits* [14, 25, 26].

2.3.2 Aquisição de imagem digital

A obtenção de imagens digitais para análise posterior é realizada através da colocação de uma câmara de aquisição junto à ocular do instrumento de ampliação de amostras de LA. Geralmente são utilizados o microscópio ótico e o microscópio de fluorescência como instrumento de ampliação das LA [4, 11, 13, 14, 23, 24, 27, 28].

O número de *bits* da imagem digital adquirida depende de qual o instrumento de ampliação e respetiva técnica. Por exemplo, se for utilizada uma microscopia ótica sem recurso a técnicas de coloração obtêm-se imagens digitais de 8 *bits*, enquanto recorrendo a microscopia de fluorescência poderá obter-se uma imagem digital de 24 *bits* [14, 27].

2.3.3 Processamento da imagem digital

As imagens adquiridas necessitam de um primeiro tratamento onde se retira o ruído da imagem através de um filtro que torna homogéneo os pixéis tendo em conta o valor dos pixéis adjacentes. Para evidenciar as fronteiras e os objetos, o contraste dos objetos é aumentado permitindo a diminuição do erro da binarização da imagem.

A binarização da imagem é a conversão de cada pixel em 0 e 1. O número 0 é atribuído ao fundo e o 1 a um objeto. Para distinguir o fundo dos objetos é utilizado um *threshold* para separar a fronteira do objeto com o fundo. O valor de *threshold* pode ser definido manualmente ou através de métodos automáticos como: o algoritmo de Otsu, entropia máxima e *K-means clustering*, sendo que este último é particularmente eficaz para o reconhecimento de imagens a cores. [4, 13, 29, 30, 31, 32, 33]. Segundo o estudo de Ginoris *et al.* (2007), os métodos de *threshold* manuais devem ser utilizados quando os métodos automáticos falham o reconhecimento da fronteira do objeto [29].

É também necessário retirar objetos que ficam na fronteira da imagem para evitar futuros erros [11, 14, 27, 28].

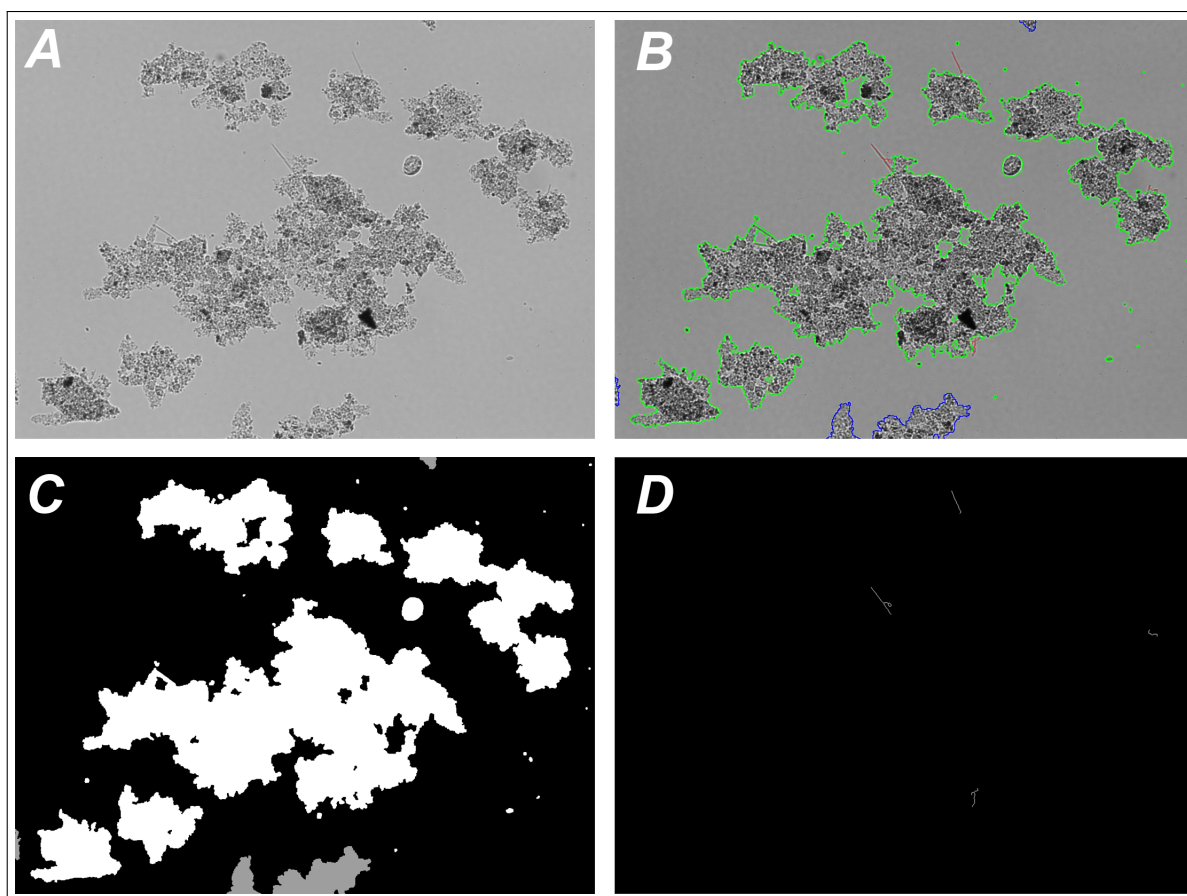


Figura 5: Imagens obtidas pelo processamento do programa “Flocos e Filamentos”. (A) Imagem original; (B) Delimitação da fronteira de objetos; (C) Imagem dos flocos; (D) Imagem dos filamentos.

Na figura 5, é possível visualizar as várias etapas do processamento de imagens de um reator pelo programa “Flocos e Filamentos”.

2.4 PLATORMA ONLINE PARA CARACTERIZAR COMUNIDADES MICROBIANAS DE ETARS

2.4.1 Bootstrap[®]

Bootstrap[®] é um *Front-end Web framework* que reúne *HyperText Markup Language (HTML)*, *Cascading Style Sheets (CSS)* e *JavaScript*). Foi criado por Mark Otto e Jacob Thornton na *Twitter* em 2010 e tem como objetivo aumentar a eficácia e consistência das aplicações *Web*.

Esta ferramenta é gratuita e o seu código é *open-source* e está alojada desde agosto de 2011 na plataforma de desenvolvimento *GitHub* com uma licença do MIT. Neste momento é atualizada através de uma pequena equipa que inclui os fundadores do projeto e dispõem

da vantagem da plataforma onde está alojada para receber propostas de desenvolvimento de *features* pela comunidade de *webdevelopers*. Atualmente esta ferramenta é a mais popular da sua variante e encontra-se na versão 3. Contudo o *Bootstrap*[®] 4 está em fase de testes, não tendo ainda uma data assinalada para o seu lançamento [34, 35].

O *Bootstrap*[®] é o *Front-end Web framework* aconselhado e incorporado nos projetos do *Visual Studio* 2015 da *Microsoft*[®].

Uma forma muito simples de detetar um *website* que utiliza *Bootstrap*[®] é através do seu característico “*nav-bar head*”, cabeçalho onde surge um símbolo que na gíria dos *developers* é intitulado como o “Menu Hamburger”, devido às suas três barras horizontais fazerem lembrar um hambúrguer. As principais vantagens da sua utilização são:

- **Documentação:** O *Bootstrap*[®] para além de disponibilizar um grande conjunto de ferramentas necessárias para o desenvolvimento *Web*, também possui uma excelente documentação no seu *website*, no qual um *developer* pode recorrer sempre que tiver alguma dúvida;
- **Rápido e fácil de começar:** Um *developer* com poucos conhecimentos de *HTML* e *CSS* consegue rapidamente construir um *website* devido à facilidade de usar blocos de código disponíveis;
- **Compatibilidade com browsers:** Está desenhado para ser compatível com os browsers mais utilizados (*Firefox*, *Safari*, *Google Chrome*, *Opera*, *Microsoft Edge* e *Internet Explorer*) [34];
- **Web design responsivo:** O *Bootstrap*[®] permite que um *website* seja adaptável ao dispositivo que o utilizador está a usar. Cada vez mais são utilizados dispositivos *mobile*, como *tablets* e *smartphones*, e a sua utilização tem tendência a aumentar, como se pode verificar na figura 6 [2]. Assim, pode-se evitar a criação de diferentes aplicações que estão dependentes do sistema operativo, utilizando um sistema universal como um *website* com *Bootstrap*[®] [35];

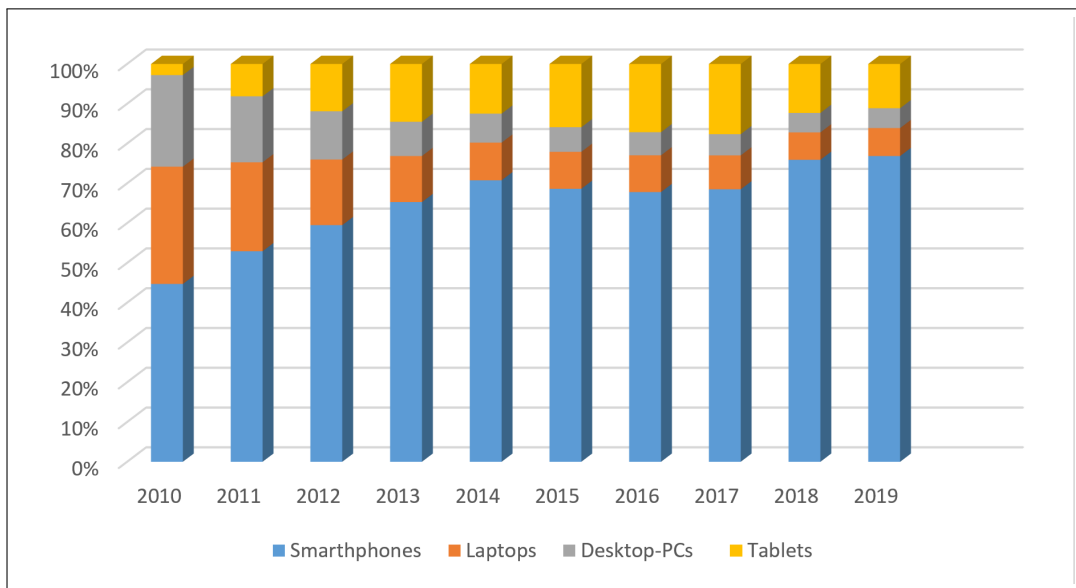


Figura 6: *Market share* de vendas de dispositivos informáticos [2].

- **Suporte:** Tem uma boa comunidade capaz de se ajudar mutuamente nos problemas que surgem ao longo de elaboração de um *website*. Em 01 de julho de 2016 a *tag* “*Bootstrap*” tinha 178437 perguntas no *website Stackoverflow*, o que demonstra a popularidade e capacidade de suporte desta *framework* [35, 36].

2.5 ASP.NET® MVC

Desenvolvido pela *Microsoft*® o *ASP.NET MVC* é um *web application framework* que incorpora e aconselha a utilização de *Bootstrap*® como *Front-end Web framework*. Esta linguagem utiliza a metodologia *model-view-controller* e é um *software open-source* [3].

Este *web application framework* pode ser escrito na linguagem de programação C# e *VB.NET* e por definição os ficheiros associados têm respetivamente a terminação *.cshtml* e *.vbhtml*. Nesta tese a linguagem de programação C# será utilizada para criar a plataforma online [3, 37].

2.5.1 Model-View-Controller

O *Model-View-Controller (MVC) framework* é uma metodologia que divide a aplicação nas classes *model*, *view* e *controller*. Esta divisão permite uma melhor organização, evitando a repetição de código comum. Permite também a grandes equipas de programadores um

maior controlo da aplicação. A figura 7 permite perceber a comunicação entre as diferentes classes.

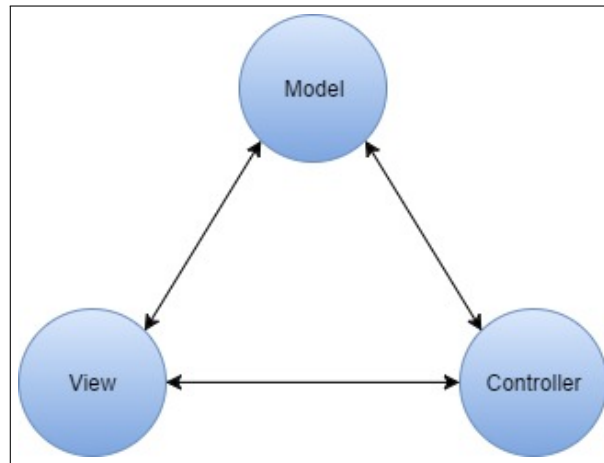


Figura 7: Comunicação entre as classes *Model*, *View* e *Controller* (adaptado de [3]).

- **Model:** As classes *Model* são responsáveis por trabalhar com a base de dados, permitindo pedir e guardar dados na base de dados.
- **View:** As classes *Views* desempenham a função de retribuir uma interface ao utilizador para este trabalhar com a aplicação.
- **Controllers:** As classes *controllers* são responsáveis por regular o que acontece na aplicação consoante o que for pedido pelo utilizador [3].

2.5.2 Linguagem C Sharp (C#)

A linguagem C# foi escolhida em detrimento da *Visual Basic*, devido ao potencial que esta linguagem tem atualmente, tendo em conta que uma só linguagem pode criar soluções para diversas plataformas como: *web*, *mobile* e *Windows*, tornando o futuro desta linguagem muito mais atrativo para os programadores [3, 38]. Uma outra vantagem é o facto de ser fácil de ler e aprender. A Microsoft® dispõe de tutoriais escritos e vídeos na plataforma online Microsoft® *Virtual Academy* que ajudam programadores experientes e inexperientes a aprender esta linguagem. Um programador de C, C++ e Java® adaptam-se facilmente a esta linguagem devido às suas semelhanças [37].

Esta linguagem orientada por objetos surgiu em 2000, estando neste momento na versão 6. A Microsoft aconselha a ser usado o *Visual Studio 2015* para programar C# e *Asp.net*.

2.6 MATLAB®

O *software* MATLAB® desenvolvido pela Mathworks®, oferece um meio de chegar a resultados mais rápido que as tradicionais linguagens de programação como C++ ou Java®. Este *software* possui a *Image Processing Toolbox* que é uma biblioteca muito completa de processamento digital de imagem. Esta *toolbox* foi escolhida para desenvolver vários algoritmos de análise automática de imagem de amostras de ETARs, como por exemplo o reconhecimento de protozoários e metazoários, assim como o reconhecimento e caracterização de flocos e filamentos [4, 13].

2.6.1 MATLAB® Compiler

Para disponibilizar programas MATLAB® a utilizadores que não possuem este *software*, a Mathworks® desenvolveu dois compiladores o MATLAB® Compiler e o MATLAB® Compiler SDK.

Visto que os utilizadores que não possuem MATLAB® nos seus computadores, não têm as bibliotecas necessárias para os programas executarem as tarefas, a Mathworks® criou o MATLAB Runtime® que instala um conjunto de componentes necessários para executar os programas compilados [39, 40]. Neste momento estes compiladores conseguem transformar um programa MATLAB® nas seguintes extensões:

- Microsoft® Excel® add-ins;
- Standalone Applications;
- C/C++ Shared Library;
- .NET Assembly;
- Java Package;
- Python Package [39, 40].

2.7 PROGRAMAS "FLOCOS E FILAMENTOS" E "PARÂMETROS"

Os programas "Flocos e Filamentos" e "Parâmetros" têm como função o tratamento de uma ou mais imagens digitais *grayscale* 8 bits nos formatos ".bmp" (Windows Bitmap), ".jpeg" (Joint Photographic Experts Group) ou ".tif" (Tagged Image File Format), adquiridas de reatores laboratoriais ou ETARs [4, 13].

2.7.1 “Flocos e Filamentos”

O programa “Flocos e Filamentos”, é responsável pela preparação e tratamento das imagens, para posteriormente se obterem os resultados através do programa “Parâmetros”. Na figura 8, pode-se verificar a aparência do *Graphical User Interface* do programa, que possui as seguintes sete etapas essenciais:

1. Retirar o fundo;
2. Binarizar a imagem;
3. Retirar filamentos;
4. Identificar filamentos;
5. Preencher pequenas falhas nos flocos;
6. Eliminar os objetos na fronteira;
7. Gravar imagens.



Figura 8: *Graphical User Interface* do programa “Flocos e Filamentos”.

A primeira etapa retira o fundo das imagens com o auxílio da imprescindível imagem controle “*bkg.tif*” que corresponde a uma lâmina sem amostra. Depois de retirar o fundo,

a imagem é transformada numa imagem binária permitindo identificar objetos e separá-los do fundo. De seguida isola-se os flocos dos filamentos de forma a obter dois resultados distintos no programa “Parâmetros”. Posteriormente é feita uma correção das imagens, através do preenchimento de falhas que possam surgir nos flocos, seguida da eliminação de objetos que estão “cortados” na fronteira da imagem para que não exista duplicação de resultados. Por último, as imagens são guardadas para futura análise no programa “Parâmetros”. Os resultados das imagens tratadas são guardados com os seguintes prefixos:

- r_ - Imagem binária de flocos;
- rm_ - Imagem com delimitação de fronteiras e objetos;
- rf_ - Imagem binária de filamentos.

A tabela 1 explica as funcionalidades dos vários submenus do programa “Flocos e Filamentos” [4, 13].

Tabela 1: Funcionalidades dos submenus do programa “Flocos e Filamentos”.

Imagem	Abrir	Iniciar o programa ao processar uma diretoria inteira se a opção “Avanço” estiver definida como “Série”. Por outro lado, se estiver definida por “Imagem a Imagem” será aberto uma janela para inserir as imagens a processar.
	Sair	Sair do programa.
Avanço	Série/Imagem a imagem	Definir se pretende o tratamento de uma série de imagens ou o tratamento imagem a imagem.
Parâmetros	Tipo de Flocos	Definir se o tipo de flocos são Micro ou Macro.
	Filamentos	Definir se pretende efetuar a determinação de filamentos.
Tratamento	Deteção de flocos	Definir modo de deteção de flocos: <i>Otsu</i> ou limite manual.
	Tipo de imagem	Definir tipo de aquisição de imagem: seca ou aquosa.
	Deteção de filamentos	Definir modo de deteção de filamentos: <i>Otsu</i> ou limite manual.
	Limites manuais	Definir os seguintes parâmetros: <ul style="list-style-type: none"> • Macro; • Disk size; • Micro; • Filamentos.
	Eliminação de debris	Definir os seguintes parâmetros: <ul style="list-style-type: none"> • Limite máximo de poros (pixéis); • Limite mínimo de macroflocos (pixéis); • Limite mínimo de microflocos (pixéis); • Limite máximo dos filamentos (pixéis).

2.7.2 “Parâmetros”

O programa “Parâmetros”, tem o *Graphical User Interface* evidenciado na figura 9. Este programa é responsável por importar as imagens tratadas anteriormente pelo programa

“Flocos e Filamentos”, e obter resultados distintos para flocos e filamentos. Este programa possui três etapas essenciais:

1. Importar imagens tratadas pelo programa “Flocos e Filamentos”;
2. Determinação de resultados;
3. Gravar resultados.

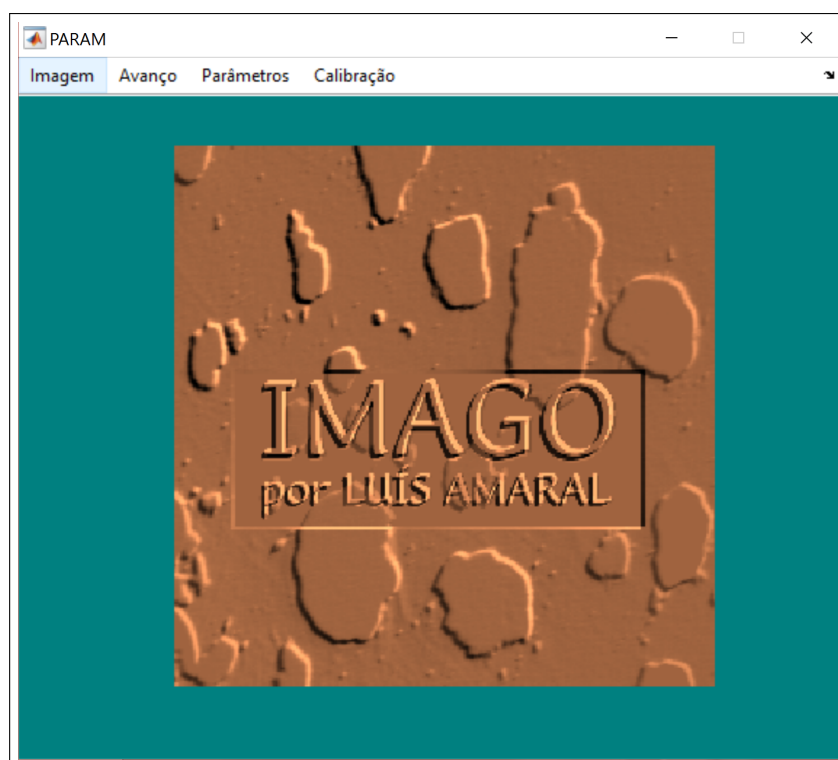


Figura 9: *Graphical User Interface* do programa “Parâmetros”.

A determinação dos resultados depende da opção escolhida no submenu “Escolha dos parâmetros”, que pode ser selecionada para flocos ou para filamentos. Estes resultados são escritos no ficheiro “*res.txt*” juntamente com as restantes imagens, obtendo resultados para os flocos ou para os filamentos, como pode-se verificar na tabela 2 [4, 13].

Tabela 2: Resultados obtidos pelo programa “Parâmetros”

Resultados para os Flocos:	Resultados para os Filamentos:
Área; Perímetro; Comprimento; Largura; Fator forma; Convexidade; Compacidade; Esfericidade; Solidez; Extensão; Excentricidade; Robustez; Maior Concavidade; Área Real; Área Total.	Área; Comprimento; Número; Comprimento Médio; Espessura Média; Área Média; Número Intersecções; Número Espaços; Comprimento Total.

A tabela 3 explica a função de cada submenu do programa “Parâmetros”.

Tabela 3: Funcionalidades dos submenus do programa “Parâmetros”.

Menu	Submenu	Função
Imagem	Abrir	Iniciar o programa ao processar uma diretoria inteira se a opção “Avanço” estiver definida como “Série”. Se estiver definida por “Imagem a Imagem” será aberto uma janela para inserir as imagens a processar.
	Sair	Sair do programa.
Avanço	Série/Imagem a imagem	Definir se pretende o tratamento de uma série de imagens ou o tratamento imagem a imagem.
Parâmetros	Escolha dos parâmetros	Definir se pretende resultados para os flocos ou filamentos.
Calibração	Calibração das distâncias	Definir valor de 1 pixel em microns.

2.7.3 Parâmetros morfológicos

Os resultados provenientes do programa “Parâmetros” (tabela 2), são parâmetros morfológicos obtidos pela análise de flocos e filamentos através de metodologias de natureza euclidiana [4, 5, 13]. Para compreender algumas metodologias utilizadas é necessário introduzir alguns conceitos como diâmetro equivalente, diâmetro de Feret, caixa fronteira e envelope convexo.

Diâmetro equivalente

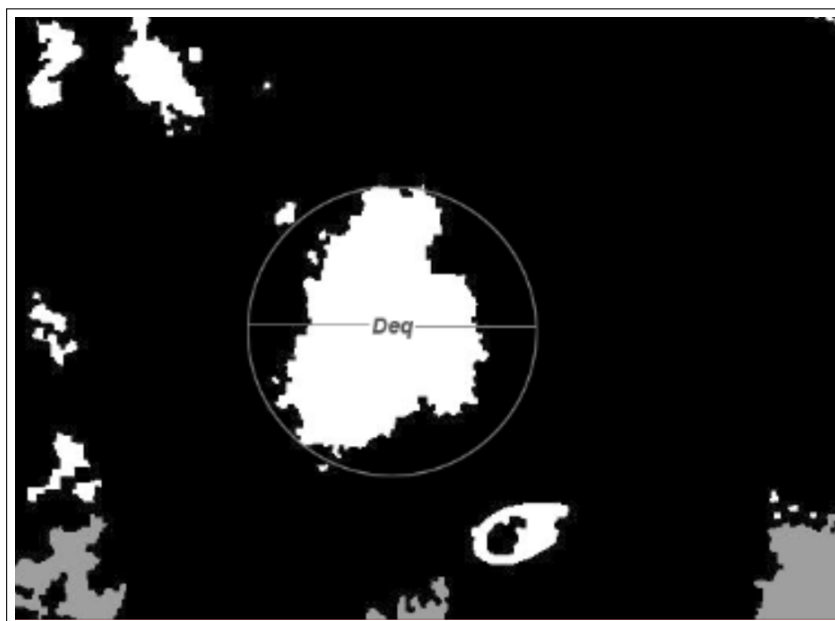


Figura 10: Representação do cálculo do diâmetro equivalente no floco (Imagem processada pela plataforma online).

O diâmetro equivalente, representado pela figura 10, é dado pelo diâmetro do círculo que envolve o floco, e é calculado pela seguinte fórmula:

$$D_{Eq} = 2\sqrt{\frac{A}{\pi}}$$

$$A = N_{Obj} \times F_{Cal}$$

Diâmetro de Feret

O diâmetro de Feret, é obtido através de duas retas tangentes paralelas à fronteira do objeto. A largura do objeto é obtida pela tangente mais curta corresponde ao diâmetro de Feret mínimo (F_{Min}), enquanto que o comprimento é obtido pelo diâmetro de Feret máximo (F_{Max}) que por sua vez corresponde à tangente mais longa [4, 41].

Caixa fronteira

A caixa fronteira é criada através da fronteira do floco em análise. Esta caixa é importante para calcular a extensão do floco, através da largura da caixa (W_{bb}) e o valor do comprimento (L_{bb}). Na figura 11 pode-se visualizar a representação de uma caixa fronteira [4, 41].

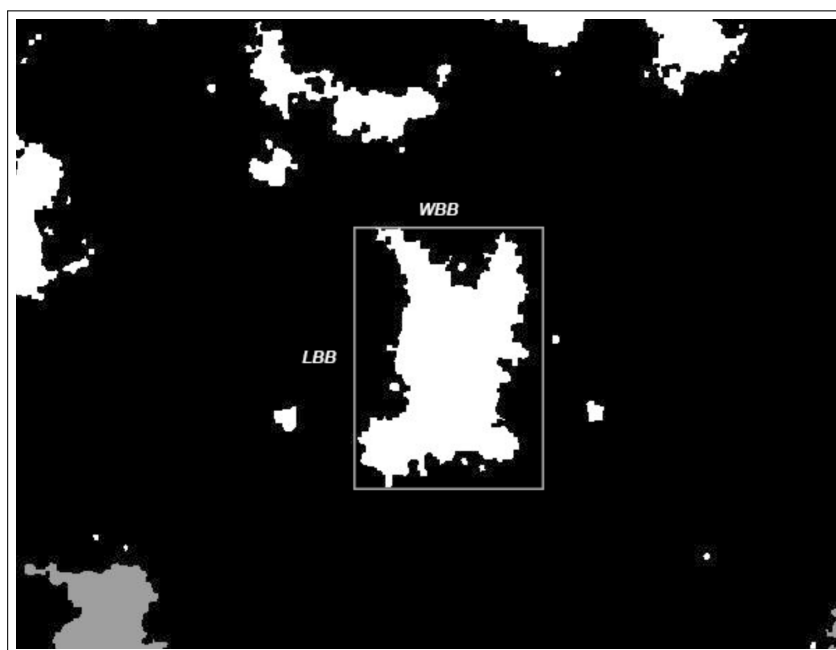


Figura 11: Representação da caixa fronteiria no floco (Imagem processada pela plataforma online).

Envelope convexo

O envelope convexo é criado através do polígono com menor superfície que engloba os pontos fronteiria. Este polígono é formado através de várias retas que englobam dois pontos fronteiria adjacentes. Depois de formadas as retas, o espaço interior é preenchido formando o envelope convexo [4, 26].

A tabela 4 explica como são calculados os parâmetros que são apresentados pela plataforma online.

Tabela 4: Metodologia de obtenção de parâmetros morfológicos.[4, 5]

Parâmetros morfológicos	Metodologia de obtenção:
Área	A área(A) é obtida através da multiplicação do número de pixels ocupado por um objeto (N_{Obj}) com o factor de calibração (F_{Cal}), obtendo-se a área em unidades de medida. $A = N_{Obj} \times F_{Cal}$
Área Total	A área total é obtida pelo somatório da área de todos objetos, incluindo objetos eliminados pela fronteira da imagem
Largura	A largura do objeto é dada através do diâmetro mínimo de <i>Feret</i> , que representa a distância mínima entre duas tangentes paralelas ao objeto, convertida em unidades de medida pela multiplicação pelo factor de calibração. [42, 4].
Comprimento	O comprimento é obtido através da conversão em unidades de medida, pela multiplicação do diâmetro máximo de <i>Feret</i> pelo factor de calibração.
Perímetro	O perímetro (P) é obtido através da soma de todos os pixels de fronteira do objeto (N_{Per}) com o factor 1.1222 para diminuir a diferença dos diferentes ângulos de filamentos. Este resultado é convertido para unidades de medida através da multiplicação pelo factor de calibração (F_{Cal}) [43, 4]. $P = N_{Per} \times 1.1222 \times F_{Cal}$
Fator forma (FF)	O factor forma é obtido pela aplicação da seguinte equação: $FF = \frac{P^2}{4\pi A}$, onde (P) corresponde ao perímetro e (A) à área.
Convexidade	A convexidade ($Conv$) é obtida pela razão do perímetro do polígono que envolve o objeto em análise (P_{Conv}) e o perímetro (P) do objeto. $Conv = \frac{P_{Conv}}{P}$
Compacidade	A compacidade ($Comp$) é obtida através da aplicação da seguinte equação: $Comp = \sqrt{\frac{4}{\pi} \times \frac{A}{F_{Max}}}$, onde (A) corresponde à área do objeto e (F_{Max}) à força máxima
Esfericidade	A esfericidade (Esf) é obtida através da seguinte equação [41, 4]: $Esf = \frac{4\pi A}{P_{Conv}^2}$, onde (A) corresponde à área do objeto e (P_{Conv}) ao perímetro do polígono que envolve o objeto.
Solidez	A solidez (Sol) é obtida através da divisão da área (A) do objeto pela área do polígono que envolve totalmente o objeto (A_{Conv}). $Sol = \frac{A}{A_{Conv}}$
Extensão	A extensão (Ext) é obtida através da divisão área (A) do objeto e a área da caixa resultante das fronteiras do objeto, onde (W_{BB}) corresponde à largura da caixa e (L_{BB}) ao comprimento. $Ext = \frac{A}{W_{BB} \times L_{BB}}$
Excentricidade	A excentricidade (Exc) é obtida através do cálculo dos momentos de segunda ordem do objeto, e é calculada através da seguinte equação: $Exc = \frac{(4\pi)^2 (M_{2X} - M_{1Y})^2 + 4M_{2XY}^2}{A^2}$ Para calcular M_{2XY} é usada a seguinte equação: $M_{2XY} = \frac{1}{A} \sum_{i=1}^n (X'_i - M_{1X})(Y'_i - M_{1Y})$, onde X'_i e Y'_i representam as coordenadas de cada objeto.
Robustez	A robustez (Rob) é obtida pela aplicação da seguinte equação: $Rob = \frac{2er_{obj}}{\sqrt{A}}$ O número de erosões necessárias para eliminar um objeto é intitulado como (er_{obj})
Comprimento do filamento	A obtenção do comprimento do filamento C_{Fil} é procedida pelo reconhecimento de filamentos livres, que estão localizados agarrados ao floco ou disperso e que tenham pelo menos 8 pixels. A obtenção deste parâmetro é calculada através da seguinte fórmula: $C_{Fil} = (N_{Thn} + N_{Int}) \times 1.1222 \times F_{Cal}$, onde (N_{Thn}) corresponde à soma de pixels dos filamentos e o numero de interseções de filamentos (N_{Int}).
Comprimento total dos filamentos	O comprimento total dos filamentos é dado pelo somatório de todos os comprimentos de filamentos.

MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 ADAPTAÇÃO DOS PROGRAMAS “FLOCOS E FILAMENTOS” E “PARÂMETROS”

Os programas “Flocos e Filamentos” e “Parâmetros” são dois programas distintos que para serem inseridos na plataforma online tiveram de ser primeiramente otimizados. Este processo de otimização permitiu remover funcionalidades que seriam adotadas repetidamente pela plataforma online.

Para tornar mais eficiente o processo, estes dois programas foram fundidos numa só função intitulada como “*main.m*” que incorpora as funções *core* dos dois programas, resumindo tudo num novo programa intitulado “*Flocos e Filamentos*”. Essas funções foram alteradas no sentido de produzir resultados para flocos e filamentos no mesmo processo. Os resultados para os flocos são inseridos no ficheiro texto “*resflocs.txt*” e os resultados de filamentos no ficheiro texto “*resfilam.txt*”.

Nestes dois programas foram retiradas as *Graphical User Interfaces* necessárias para os programas receberem os *inputs* dos utilizadores, sendo depois substituídas pela leitura de um ficheiro “.txt” com os *inputs* dos utilizadores. O ficheiro texto (“.txt”) para ser lido pela função “*main.m*” necessita de ter a formatação igual à figura 12.

```
1 binflc,thrs,binfil,thrs,thmac,0.25,strl,5,thmic,0.3,thfil,0.2,debmac,9,debol,25,debmic,9,lfil,20,floco,micro,filam,sim,typimg,wat
2 dist,1,param,floco
```

Figura 12: Exemplo de ficheiro texto (“.txt”) para leitura pela função “*main.m*”.

Como se pode verificar na figura 12, o ficheiro texto possui duas linhas que são lidas pela função “*main.m*” para importar os parâmetros escolhidos pelo utilizador. Cada linha é utilizada para construção de um *struct arrays* com a função *strsplit* que desassocia cada parâmetro e respetivo valor, através da identificação das vírgulas que os separam. A primeira linha é utilizada pelas funções do programa “Flocos e Filamentos”, enquanto que a segunda é utilizada pelas funções do programa “Parâmetros”.

Para cada linha, as colunas ímpares correspondem aos parâmetros e as colunas pares aos respetivos valores.

$$s = \text{struct}(\text{field1}, \text{value1}, \dots, \text{fieldN}, \text{valueN})$$

Figura 13: Estrutura de um *struct array* em MATLAB®.

Os *struct arrays* seguem a formatação da figura 13 onde os parâmetros são colocados na posição “*field*” e os valores na posição “*value*”. Na figura 14 pode-se verificar os *struct arrays* já criados a partir do ficheiro texto da figura 12.

```
binflc: 'thrs'
binfil: 'thrs'
thmac: 0.2500
strl: 5
thmic: 0.3000
thfil: 0.2000
debmac: 9
debhol: 25
debmic: 9
lfil: 20
floco: 'micro'
filam: 'sim'
typimg: 'wat'

dist: 1
param: 'floco'
```

Figura 14: Exemplo de dois *struct arrays* criados através da leitura do ficheiro texto.

A escolha de tratamento de uma série de imagens ou de um tratamento imagem a imagem foi substituído por uma função *input file* na plataforma online que permite as duas funcionalidades.

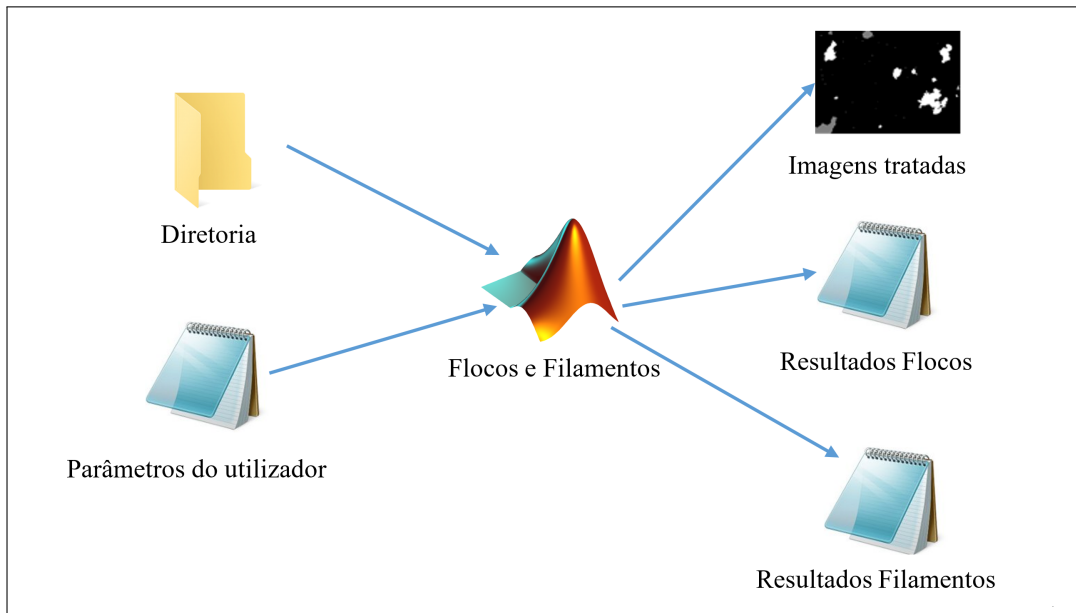


Figura 15: Esquema de entradas e saídas do programa “Flocos e Filamentos”.

O programa “Flocos e Filamentos”, como evidenciado na figura 15, foi desenhado para receber dois parâmetros, diretoria e nome do ficheiro texto, e dele sair as imagens tratadas e os resultados para flocos e filamentos. Os dois parâmetros de entrada permitem ao programa localizar a pasta onde se encontram as imagens a tratar, assim como o ficheiro texto com as repetitivas escolhas do utilizador para futuro tratamento das imagens. Este programa tem as seguintes etapas essenciais:

1. Definir diretoria como *current folder*;
2. Ler o ficheiro texto;
3. Contruir *struct arrays* a partir do ficheiro texto;
4. Retirar o fundo;
5. Binarizar a imagem;
6. Retirar filamentos;
7. Identificação dos filamentos;
8. Preencher pequenas falhas nos flocos;
9. Eliminar os objetos na fronteira;
10. Gravar imagens;

11. Determinação de parâmetros;
12. Gravar resultados;
13. Mudar extensão das imagens “.tif” para “.jpg”.

3.1.1 Compilação do programa “Flocos e Filamentos”

Inicialmente foi pensado compilar o programa “Flocos e Filamentos” numa biblioteca *.Net assembly* para construção de um *webservice* da *Windows Communication Foundation®*. Este *webservice* seria utilizado para receber e tratar os pedidos dos utilizadores da plataforma online. Contudo esta opção foi abandonada devido ao facto do *webservice* requerer conhecimentos técnicos avançados. A solução encontrada foi compilar o programa para uma *Standalone Application* que consiste num executável (“.exe”). Através da linguagem C# foi possível passar os parâmetros necessários para a utilização do executável, que são a diretoria e o ficheiro texto.

3.2 BASE DE DADOS

Para entender na integra como funciona a plataforma online é necessário compreender o local onde são guardados os seus dados. A base de dados da plataforma foi desenvolvida em *SQL Server*, na qual estão alojadas 6 tabelas, como se pode verificar na tabela 5.

Tabela 5: Nome das tabelas da base de dados com a sua função explicada.

Nome	Função
<i>Users</i>	Aloja informação relativa aos utilizadores registados nos seguintes campos.
ETAR	Aloja informação relativa das ETARs criadas pelos utilizadores.
Pedidos	Aloja os formulários preenchidos pelos utilizadores de cada pedido de análise de imagem.
Resultados flocos	Aloja os resultados de filamentos de cada pedido finalizado de análise de imagem tratadas.
Resultados filamentos	Aloja os resultados de flocos de cada pedido finalizado de análise de imagem.

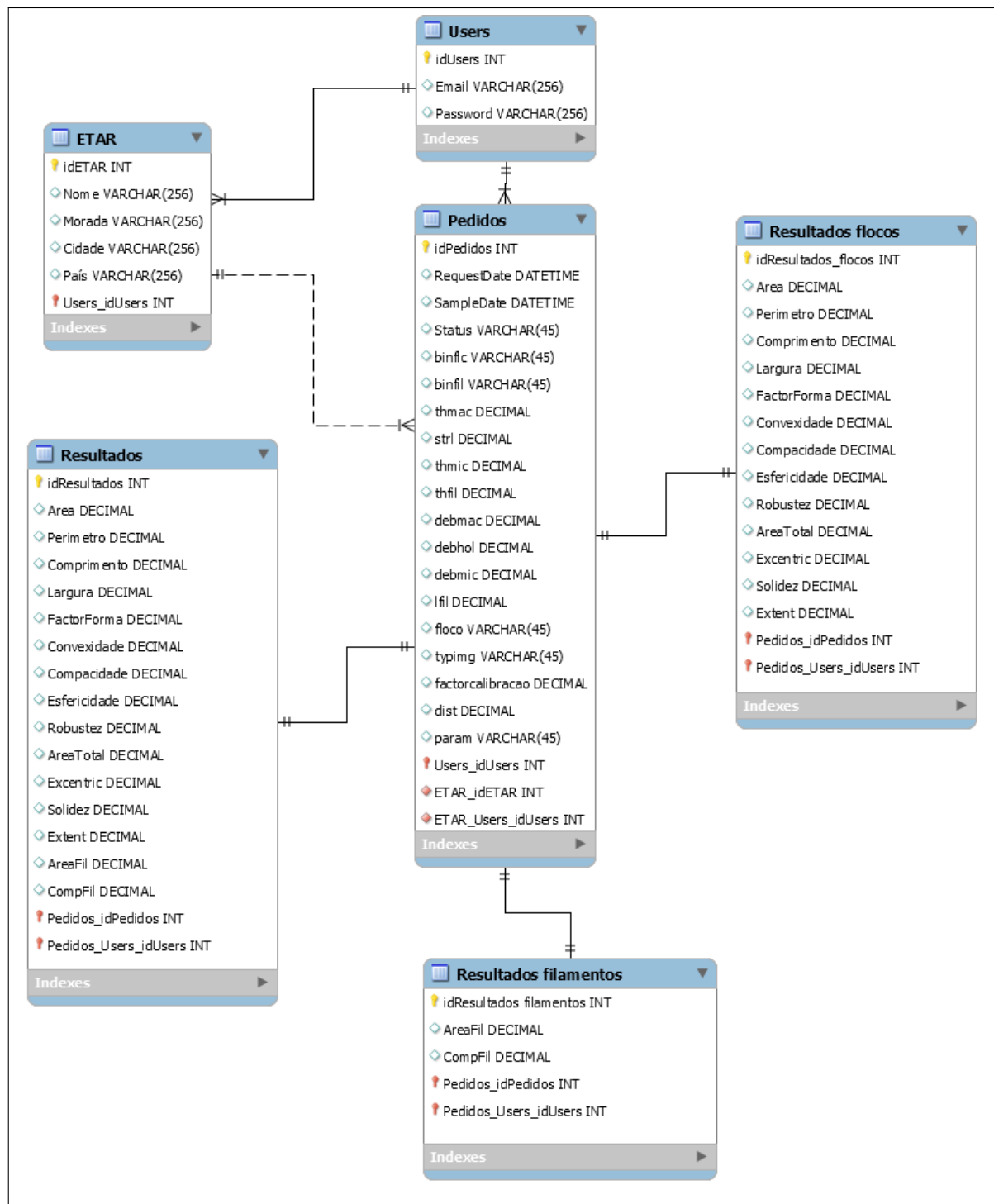


Figura 16: Esquema relacional da base de dados da plataforma online.

Na figura 16 pode-se verificar as relações entre as tabelas descritas anteriormente e o tipo de dados que alojam. De um modo geral, a tabela "User" tem uma relação 1→N para

as tabelas "ETAR" e "Pedidos", isto é, cada utilizador pode ter várias "ETARs" e pedidos associados. A tabela "ETAR" pode estar associada a vários pedidos, o que implica uma relação de $1 \rightarrow N$ para as tabelas "ETAR" e "Pedidos". Por outro lado, a tabela "Pedidos" tem uma relação $1 \rightarrow 1$ para "Resultados Flocos", "Resultados Filamentos" e "Resultados", devido a um pedido só poder estar associado a um resultado. Este tipo de relações permite diminuir a redundância de uma base de dados ao evitar alojar dados repetidos nas tabelas. Por exemplo devido à relação entre a tabela "Pedidos" e "Resultados", é possível conhecer a data da amostra de um resultado na tabela "Resultados".

Nesta base de dados apenas existem 4 tipos de dados: inteiros, *varchar*, *datetime* e decimais. Estas propriedades permitem a validação dos dados que dão entrada na base de dados, produzindo erros caso haja inserção de um tipo de dados diferente do definido na coluna.

As tabelas "Resultados flocos" e "Resultados filamentos" contém geralmente muitas linhas de resultados do mesmo pedido de análise de imagem. Assim para a apresentação de resultados ao utilizador é necessário realizar a operação da média dessas linhas. Para permitir poupar tempo de resposta foi criada a tabela "Resultados", que é responsável por guardar a média dos resultados para os flocos e filamentos de cada pedido, permitindo à plataforma apenas calcular uma vez a média de cada resultado. Embora a plataforma apresente unicamente a média dos resultados, optou-se por guardar os resultados originais caso seja necessário um novo estudo.

3.3 CRIAÇÃO DA PLATAFORMA ONLINE

3.3.1 Página de entrada



Figura 17: Página de entrada da plataforma online.

A página de entrada da plataforma online foi desenhada de forma a manter semelhanças com o estilo da página do CEB, diferindo no conteúdo e na forma de apresentar o mesmo, como se pode verificar na figura 17. Esta página possui hiperligações para os *websites* do CEB e da Universidade do Minho.

Em termos de apresentação de conteúdo foi escolhido o formato “one page”, onde os conteúdos são disponibilizados em apenas uma página. Basicamente este conteúdo divide-se em 4 sectores:

- Cabeçalho - Permite ter acesso às hiperligações para as restantes secções da plataforma e *websites* do CEB e Universidade do Minho. Possui também uma apresentação gráfica com o logotipo na parte superior esquerda e uma imagem microscópica de uma amostra de lammas ativadas;
- Publicações recentes – Permite ao utilizador ter acesso às ultimas publicações do grupo de investigação deste *software*;
- Equipa – Introduz a equipa responsável pelo desenvolvimento da plataforma e apresenta hiperligações para a página pessoal dos membros da equipa que pertencem ao CEB;

- Contactos – Dispõem ao utilizador a possibilidade de aceder a uma série de contactos do tipo telefónico, endereço eletrónico e postal.

3.3.2 Página de registo de utilizadores

Para o acesso à área de utilizador é necessário que este tenha uma conta pessoal e efetue o seu *login*. Nesse sentido existem duas páginas distintas para o registo e outra para o *login*, que são semelhantes no sentido de como dispõem o seu conteúdo. Nestas duas páginas foi replicada uma funcionalidade dos programas “Flocos e Filamentos” e “Parâmetros”, onde o utilizador consegue visualizar as imagens a serem tratadas.

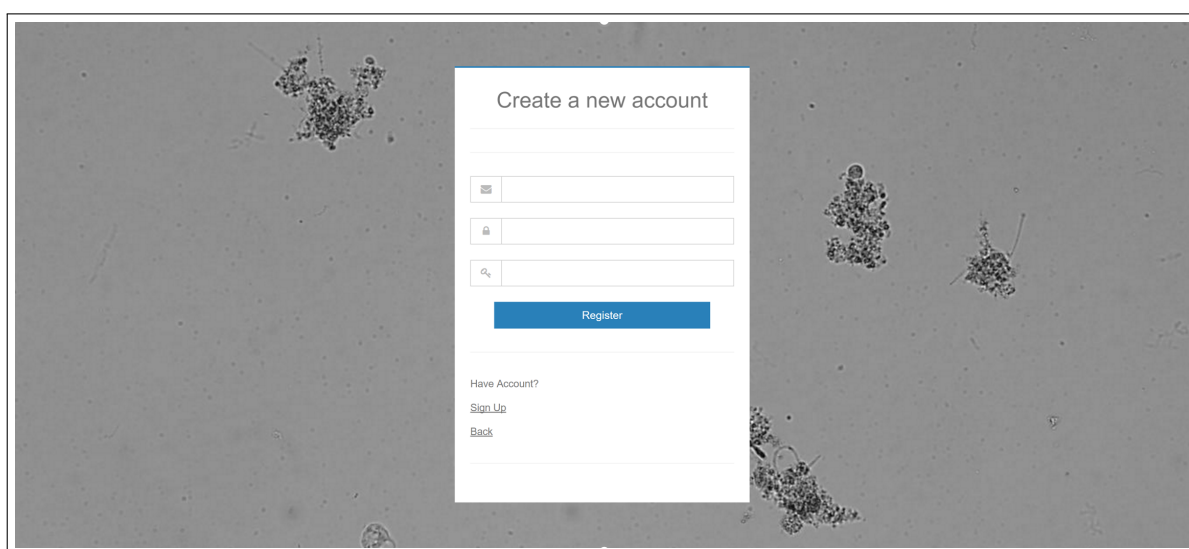


Figura 18: Página para efetuar registo de novos utilizadores.

Como se pode verificar na figura 18, para registo de um utilizador, é necessário que este disponibilize o seu endereço de *email*, uma *password* e uma confirmação da *password*. A *password* por questões de segurança, tem de possuir pelo menos um caractere maiúsculo ou minúsculo diferenciador do resto da *password*, e possuir pelo menos um dígito de 0 a 9. Para verificar eventuais erros no preenchimento do formulário, é feita a verificação desse mesmo formulário pelas regras acima descritas, e verificando também se a *password* e a confirmação da *password* coincidem. Se em qualquer caso houver uma regra que não seja cumprida é apresentado o erro no *browser* com as seguintes sugestões:

- “The Email field is not a valid e-mail address.”;
- “Email ‘admin@admin.pt’ is already taken.”;
- “The password and confirmation password do not match.”;

- “Passwords must have at least one digit ('0'-'9').”;
- “Passwords must have at least one uppercase ('A'-'Z').”.

Caso o registo seja bem-sucedido a *password* é encriptada, sendo atribuído um *id* ao utilizador e são guardados os dados na tabela “Users” da base de dados. De seguida, o utilizador é redirecionado para a sua área pessoal.

3.3.3 Página de login de utilizadores



Figura 19: Página para efetuar *login* de utilizadores já registados.

Quando o utilizador quer aceder à sua área pessoal, este deve dirigir-se à página de *login*. Nesta página, como se pode visualizar na figura 19, é pedido ao utilizador o seu endereço de *email* e respetiva *password*, que são validados através de código C# confrontando os dados inseridos no formulário com os existentes na tabela “Users” da base de dados. Caso haja alguma tentativa de *login* falhado é apresentado no *browser* as seguintes sugestões:

- “The Email field is required.”;
- “The Email field is not a valid e-mail address.”;
- “The Password field is required.”;
- “Invalid login attempt.”.

Após efetuado o *login* o utilizador é redirecionado para a sua área de utilizador.

3.3.4 Área do utilizador

A área do utilizador tem como *layout* partilhado o cabeçalho e a barra do lado esquerdo. O canto superior esquerdo apresenta o nome da plataforma online que tem uma hiperligação para a página de entrada. No lado oposto, a plataforma dá as boas-vindas ao utilizador e permite realizar o *logout* da conta pessoal. A barra do lado esquerdo possibilita ter sempre disponível as mais importantes funções da plataforma “Dashboard”, “Request analysis”, “Create WWTP/Reactor”, “Results by WWTP/Reactor” e “Home”.

Página “Create WWTP/Reactor”

Embora a página de entrada da área de utilizador seja a “Dashboard”, a primeira página que o utilizador tem contacto é a página “Create WWTP/Reactor”, devido ao facto de não possuir nenhuma ETAR/Reator associado à sua conta. O processo que verifica se o utilizador tem uma ETAR/Reator associado à sua conta acontece sempre que faz login. Caso não se verifique, o utilizador é reencaminhado para criar uma nova ETAR/Reator. Este processo é necessário visto que cada pedido de análise de imagens tem de possuir uma ETAR/Reator associada. Como se pode verificar na figura 20, a página “Create WWTP/Reactor” é constituída por um pequeno formulário que pede informação quanto ao nome e à localização da ETAR/Reator.

Figura 20: Página para criar uma ETAR/Reator.

Página “Dashboard” sem pedidos

Assim que seja concluída a criação de uma ETAR/Reator o utilizador é reencaminhado para a página “Dashboard”. Esta página tem o intuito de visualizar pedidos de análise de

imagem concluídos e não concluídos, contudo como o utilizador ainda não tem nenhum pedido feito a tabela estará vazia como na figura 21. Caso o utilizador deseje pedir uma análise de imagem tem duas opções para o fazer:

1. Efetuar um *click* na label “Request analysis” que está presente na barra do lado esquerdo em todas as páginas da área de utilizador;
2. Através do *click* no botão “Create new” na página “Dashboard”, em qualquer uma das opções o utilizador é reencaminhado para página “Request analysis”.

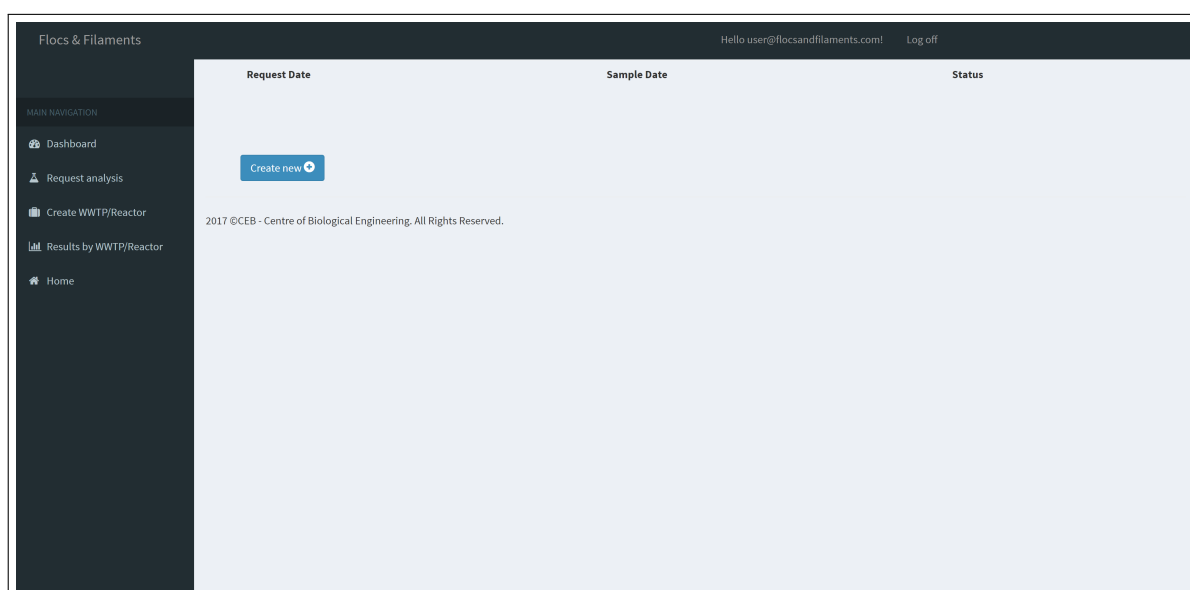


Figura 21: Página “Dashboard” sem pedidos de análise de imagem.

Página “Request analysis”

Na página “Request analysis” o utilizador é confrontado com um formulário de preferências necessárias para que o programa “Flocos e Filamentos” execute o tratamento das imagens enviadas. Este formulário concentra as opções que estavam localizadas nos submenus dos programas “Flocos e Filamentos” e “Parâmetros” numa só página. Como foi referido na subsecção “3.1”, algumas opções desses submenus foram eliminadas na otimização do programa, contudo foram incluídas novas opções como a escolha de uma ETAR/Reator e a escolha da data de recolha da amostra. Estes parâmetros estão preenchidos com valores predefinidos, mas com a possibilidade de serem editados, como se pode verificar na figura 22.

Figura 22: Página “Request analysis”

O envio de imagens está dividido por dois botões, um para enviar a imagem *background* e outro para enviar as imagens a tratar, sendo que o botão destinado para fazer *upload* da imagem *background* apenas aceita uma imagem, enquanto que o botão para inserir as imagens a tratar aceita uma ou mais imagens. Os ficheiros escolhidos são validados através de algoritmos *javascript* que verificam a extensão dos ficheiros, aceitando apenas os ficheiros com extensão “.png”, “.jpg” e “.tif”. Também existe a verificação do número de ficheiros, aceitando apenas uma imagem *background* e pelo menos uma imagem para tratamento. Caso a validação falhe o utilizador recebe um alerta com o tipo de erro e sugestão, como se pode verificar na tabela 6.

Tabela 6: Tipo de erros possíveis validados por algoritmos *javascript* e respetivos alertas presentes na página “Request analysis”.

Erro	Alerta
Caso não seja escolhida uma imagem <i>background</i>	“You need to upload background image!”
Caso seja escolhido menos de uma imagem	“You need to upload at least 1 image to analyse!”
Caso seja escolhido ficheiros com extensão não aceite	“You have to choose files with extension: “.png”, “.jpg” or “.tif”!”

No algoritmo do controlador foi criada uma validação que verifica se o utilizador preencheu o formulário na sua totalidade e corretamente. Isto é, quando o utilizador efetua o *click* no botão “Request analysis” o formulário introduzido pelo utilizador é confrontado com a classe

modelo da aplicação, o que permite prevenir erros de falta de parâmetros e tipos de dados diferentes do modelo. Caso haja uma falha, o utilizador é advertido para corrigir esse parâmetro. Caso o pedido de análise seja válido, é criada uma pasta com as imagens a analisar e um ficheiro texto idêntico à figura 12. Este é preenchido com as preferências escolhidas pelo utilizador, introduzidas no formulário da página *“Request analysis”*. Assim que termine este processo o utilizador é reencaminhado para a página *“Dashboard”*.

Página *“Dashboard”* com pedidos

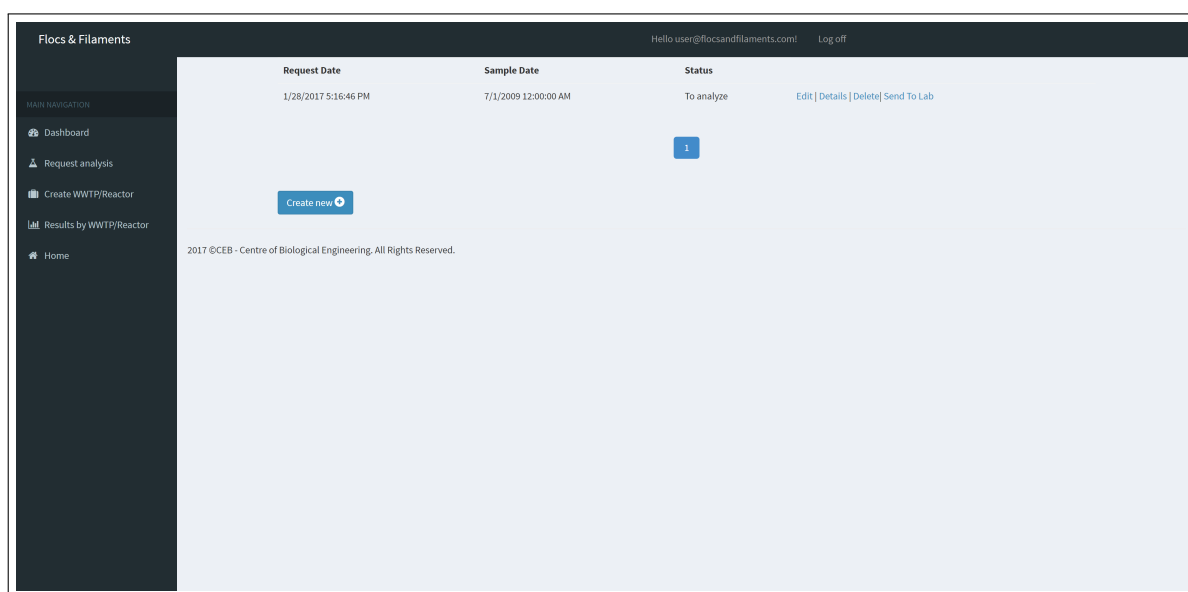


Figura 23: Página *“Dashboard”* com pedido de análise de imagem.

A figura 23 corresponde à página *“Dashboard”* onde podemos verificar o pedido de análise de imagem que ainda não foi tratado. Estes pedidos são agrupados em páginas, sendo que para cada página são agrupados no máximo 20 pedidos.

Para os pedidos não concluídos é possível: executar a edição, ver detalhes, eliminar e enviar para laboratório. Caso a análise já esteja concluída é possível ver os resultados para pedidos de análises bem-sucedidos, enquanto para os pedidos que não produzam resultados, o *status* desse pedido terá como designação *“Error”* permitindo apenas ao utilizador eliminar o pedido.

A opção *“Send to lab”* permite ao utilizador pedir à plataforma para tratar as imagens. Este processo é um pouco demorado, sendo que a página fica no estado de *“refresh”* até o processo ser concluído. Assim que seja concluído o pedido de tratamento de imagens, a página *“Dashboard”* é atualizada, com o respetivo estado de *“Error”* ou *“Finished”*.

Página *“Edit”*

Flocs & Filaments Hello user@flocsandfilaments.com! Log off

Edit

Flocs detection mode:
 Thrs
 Minimum limit of microfloc (pixel): 9
 Manual Limits: 0,25
 Filaments: 0,2
 Type of image acquisition: Water

Filaments detection mode:
 Thrs
 Minimum limit of macroflocs (pixel): 9
 Disk size: 5
 Value of 1 pixel (μ): 1
 WWTP/Reactor: Reactor 1

Types of flocs:
 Micro
 Maximum Width limit of filaments (pixel): 20
 Micro: 0,3
 Maximum limit of porous (pixel): 25
 Sample Date: 1/28/2017 12:00:00 AM

[Save](#)

[Back to Dashboard](#)

2017 ©CEB - Centre of Biological Engineering. All Rights Reserved.

Figura 24: Página “Edit”.

A página “Edit” é muito semelhante à página “Request analysis” como se pode verificar na figura 24. Esta página apresenta a função de editar um pedido de análise de imagem que não esteja concluído, pelo que se um utilizador quiser proceder à alteração das preferências escolhidas quando iniciou o pedido, consegue-o através desta página.

Assim que o utilizador guarde o formulário, o respetivo ficheiro “.txt” com as preferências do pedido é atualizado.

Página “Details”

Flocs & Filaments Hello user@flocsandfilaments.com! Log off

Details

Request Date: 1/28/2017 6:22:35 PM
 Sample Date: 1/28/2017 12:00:00 AM
 To analyze: Status
 Flocs detection mode: Thrs
 Filaments detection mode: Thrs
 Manual Limits: 0.25
 Disk size: 5
 Micro: 0.3
 Filaments: 0.2
 Minimum limit of macroflocs (pixel): 9
 Maximum limit of porous (pixel): 25
 Minimum limit of microfloc (pixel): 9
 Maximum Width limit of filaments (pixel): 20
 Types of flocs: Micro
 Value of 1 pixel (μ): 1
 Type of image acquisition: wat
 WWTP/Reactor: Reactor 1

[Edit | Back to Dashboard](#)

2017 ©CEB - Centre of Biological Engineering. All Rights Reserved.

Figura 25: Página “Details”.

A página *"Details"* serve sobretudo para visualizar detalhadamente as preferências que escolheu quando iniciou o pedido. Se o utilizador necessitar de fazer uma edição ao pedido, esta página tem uma hiperligação à página de edição, como está exemplificado na figura 25.

Página *"Results by WWTP/Reactor"*

Na área do utilizador, para além de ser possível visualizar os resultados de um só pedido, também é possível visualizar gráficos e tabelas de resultados ao longo do tempo por ETAR/reator. Esta funcionalidade encontra-se na página *"Results by WWTP/Reactor"*, onde o utilizador pode escolher visualizar os resultados ao longo do tempo para cada ETAR/reator que tenha associado à sua conta.

Na figura 26 é possível visualizar a estrutura da página *"Results by WWTP/Reactor"*, que apresenta para cada ETAR/reator associada um botão para visualizar resultados sobre a forma de gráficos e outro botão para as tabelas.

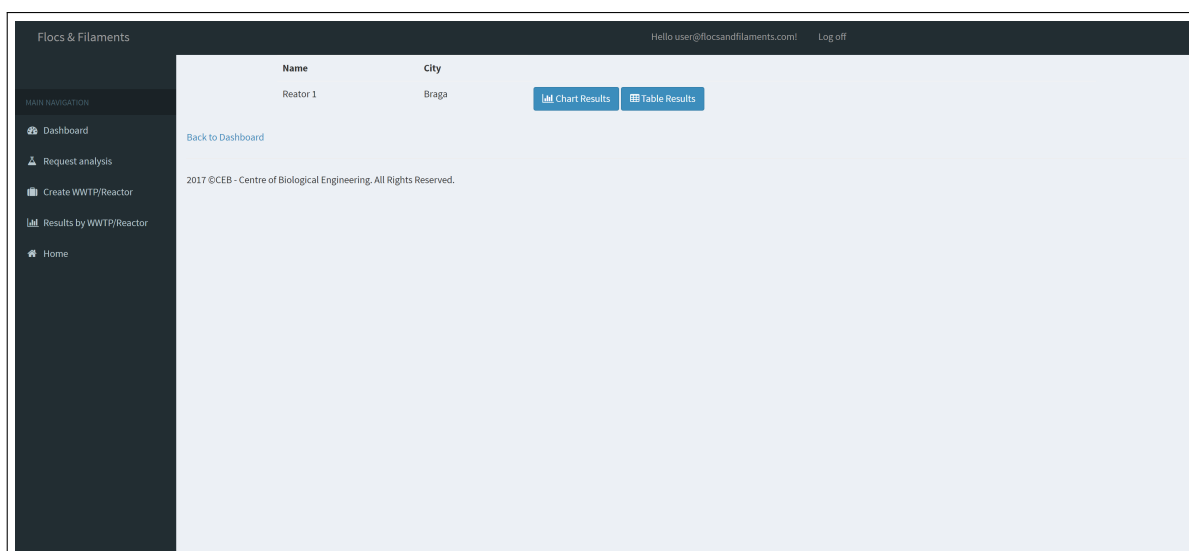


Figura 26: Página *"Results by WWTP/Reactor"*.

Esta funcionalidade é muito importante para permitir ver a evolução dos parâmetros morfológicos ao longo do tempo.

Página *"Results"*

Os resultados de um pedido de análise de imagem são apresentados tal como é evidenciado na figura 27. Primeiro são gerados gráficos que podem ser descarregados através do *click* no botão *"Save Chart Image"*, depois os resultados são apresentados sobre a forma de tabela e por fim as imagens tratadas são apresentadas dentro de um *"Bootstrap Carousel"*.

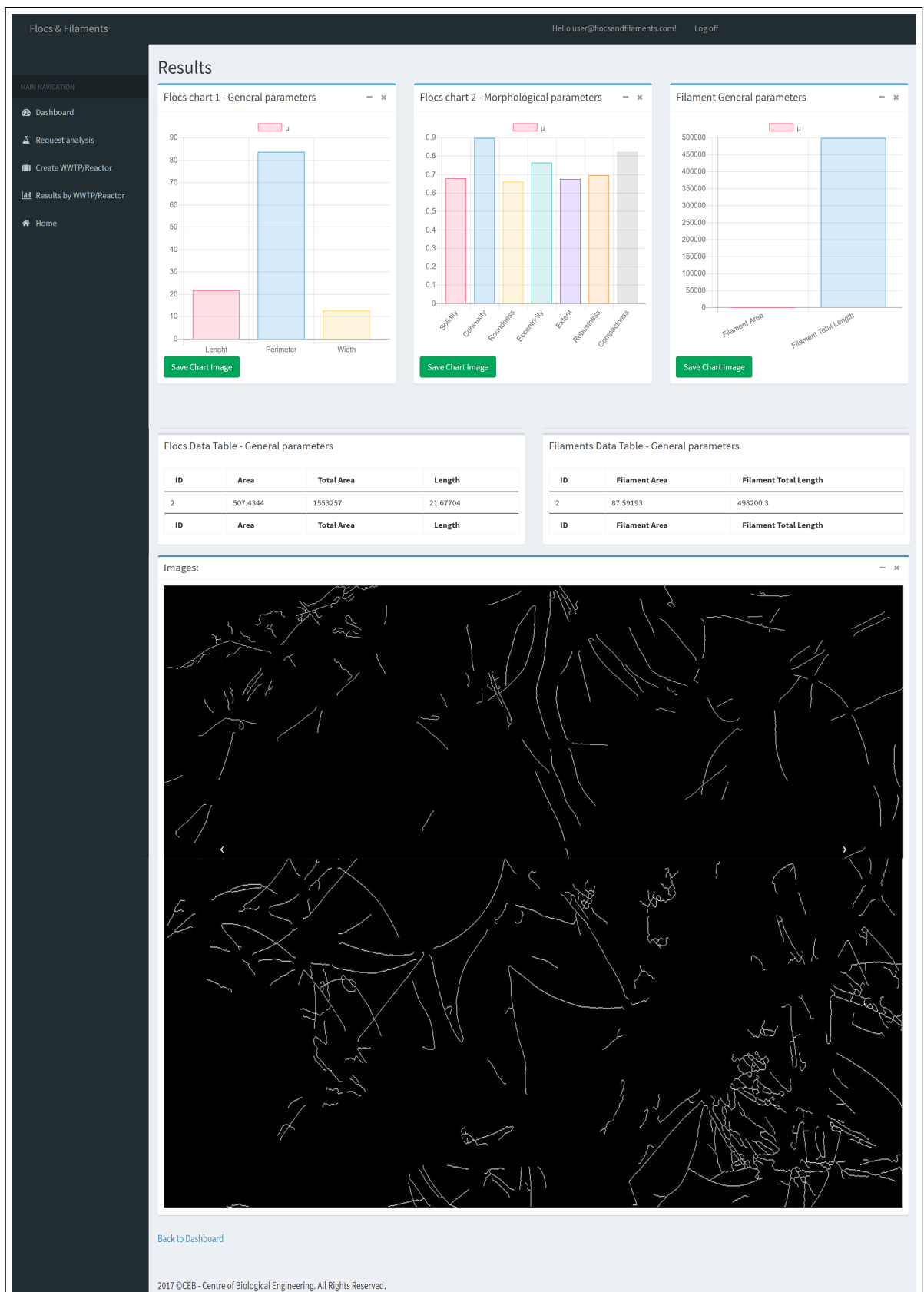


Figura 27: Página “Results”.

3.4 COMPONENTES UTILIZADOS

Na construção da plataforma online foi necessário incorporar bibliotecas *javascript* para a apresentação de resultados e escolha de parâmetros. Estas bibliotecas são: gratuitas, *open-source*, *responsive* e muito populares na comunidade de *web developers*.

3.4.1 "Bootstrap Carousel"

O *Bootstrap Carousel* funciona como um carrossel no sentido como as imagens vão mudando de forma circular [44]. Este componente foi utilizado para apresentar as imagens originais e tratadas pela plataforma e está presente na página "*Results*" de cada pedido. O utilizador através deste componente para além de poder visualizar as imagens do pedido, também consegue fazer o respetivo *download*. A figura 28 apresenta o componente com uma imagem de flocos tratada pela plataforma.

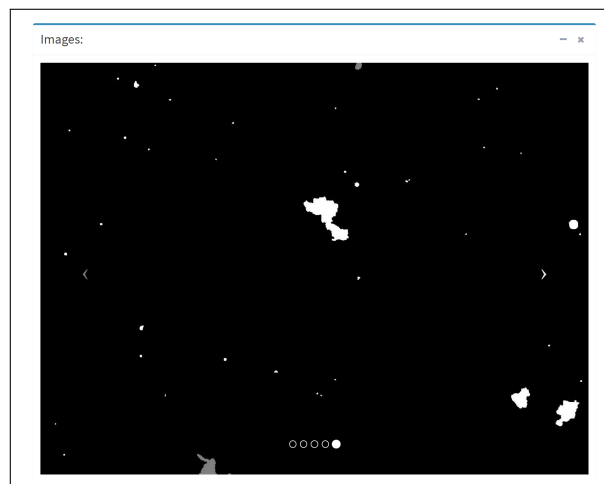


Figura 28: *Bootstrap Carousel* utilizado para apresentar as imagens tratadas.

3.4.2 *Chartjs*

A biblioteca *Chartjs* consegue produzir diversos tipos de gráficos como por exemplo: linhas, barras, gráfico de setores, etc [45]. Na plataforma foram utilizados dois tipos de gráficos, o de barras para apresentar resultados apenas de um pedido e o de linhas para os resultados ao longo do tempo. Na figura 29 está presente um gráfico exportado pela plataforma, da variação da área total dos flocos ao longo do tempo.

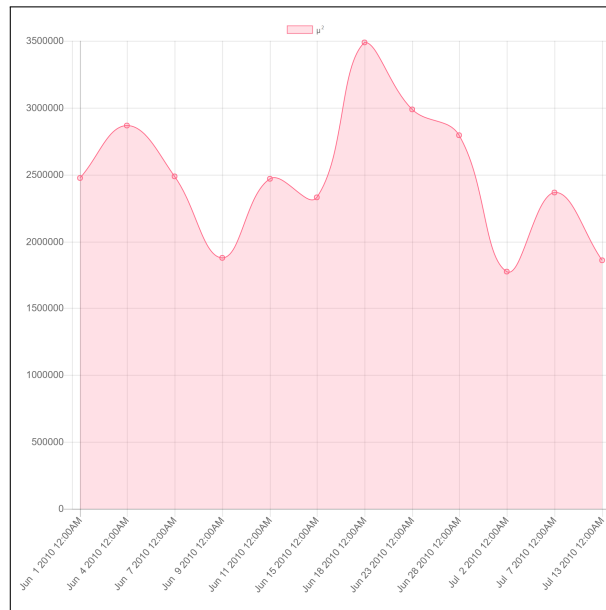


Figura 29: Gráfico exportado pela plataforma da variação da área total dos flocos ao longo do tempo.

3.4.3 *Bootstrap Datepicker*

A biblioteca *Bootstrap Datepicker* fornece um *widget* utilizada para selecionar datas numa plataforma online. Esta biblioteca permite selecionar apenas uma data ou por exemplo um intervalo de datas [46]. Este componente foi utilizado na página *Request analysis*, para o utilizador indicar a data de recolha da amostra, quando inicia um pedido de análise de imagem à plataforma. Este componente foi adaptado para apenas aceitar datas de amostras entre o dia 01-01-2000 e o dia em que utilizador está a requerer uma análise de imagem. Na figura 30 pode-se visualizar o componente *Bootstrap Datepicker* utilizado na página *Request analysis*.

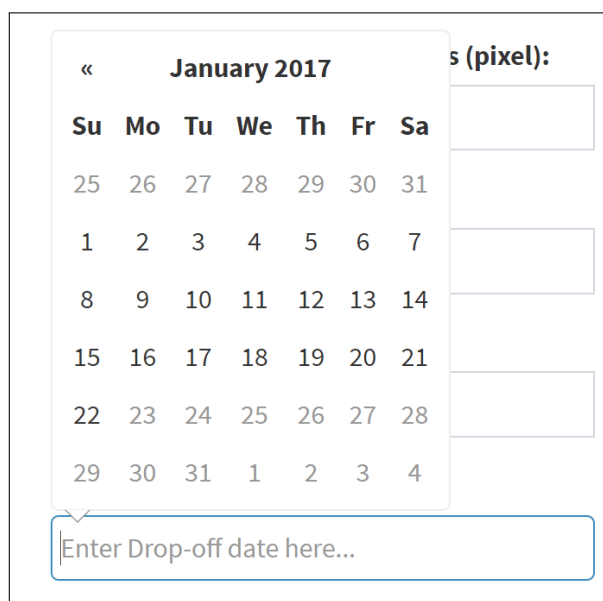


Figura 30: Componente *Bootstrap Datepicker* utilizado na página *Request analysis*.

3.4.4 *DataTables*

A biblioteca *DataTables* permite disponibilizar dados sobre a forma de tabelas, com a vantagem de esses dados poderem ser ordenados como o utilizador preferir. Esta tabela pode ser copiada e exportada nos formatos *CSV*, *Excel* e *PDF*, e se o utilizador assim o desejar, também poderá imprimir numa impressora a tabela [47]. Estas funcionalidades, são perceptíveis na figura 31. Este componente foi utilizado na página "Results" e "Results by WWTP/Reactor".

Flocs Data Table

CopyCSVExcelPrintPDF

Search:

ID	SampleDate	Area	Total Area	Length	Perimeter	Width	Shape Factor
2	6/3/2009 12:00:00 AM	456.3076	4739668	20.54276	74.05266	12.00799	2.529415
3	6/8/2009 12:00:00 AM	656.5776	4377403	18.6075	80.9121	12.87	2.290174
5	6/10/2009 12:00:00 AM	229.6752	4208798	12.71533	42.70053	8.296257	2.066079
6	6/12/2009 12:00:00 AM	760.7706	4470288	21.86691	92.87358	15.13909	2.388824
7	6/12/2009 12:00:00 AM	760.7706	4470288	21.86691	92.87358	15.13909	2.388824
8	6/17/2009 12:00:00 AM	313.2339	2500860	16.64443	54.0398	10.39688	2.285902
9	6/26/2009 12:00:00 AM	931.2346	5091991	23.61851	91.82867	18.86748	1.914897
10	6/29/2009 12:00:00 AM	607.1665	2801466	21.40809	75.77592	16.20952	1.890046
1	7/1/2009 12:00:00 AM	478.4876	3076675	16.06051	60.3689	13.12273	1.751096
4	7/8/2009 12:00:00 AM	239.6411	4618364	12.84818	39.8063	8.444844	1.845572
ID	SampleDate	Area	Total Area	Length	Perimeter	Width	Shape Factor

Showing 1 to 11 of 11 entries

Previous

1

Next

Figura 31: Componente *DataTables* apresentado na página “Results by WWTP/Reactor”.

Caso o utilizador necessite de imprimir a tabela ou pretenda exportar-la no formato *PDF*, estas duas opções foram alteradas para conterem o logótipo do CEB, como se pode verificar nas figuras 32 e 33.

Export Results - Flocs & Filaments

ID	SampleDate	Area	Total Area	Length	Perimeter	Width	Shape Factor
2	6/3/2009 12:00:00 AM	456.3076	4739668	20.54276	74.05266	12.00799	2.529415
3	6/8/2009 12:00:00 AM	656.5776	4377403	18.6075	80.9121	12.87	2.290174
5	6/10/2009 12:00:00 AM	229.6752	4208798	12.71533	42.70053	8.296257	2.066079
6	6/12/2009 12:00:00 AM	760.7706	4470288	21.86691	92.87358	15.13909	2.388824
7	6/12/2009 12:00:00 AM	760.7706	4470288	21.86691	92.87358	15.13909	2.388824
8	6/17/2009 12:00:00 AM	313.2339	2500860	16.64443	54.0398	10.39688	2.285902
9	6/26/2009 12:00:00 AM	931.2346	5091991	23.61851	91.82867	18.86748	1.914897
10	6/29/2009 12:00:00 AM	607.1665	2801466	21.40809	75.77592	16.20952	1.890046
1	7/1/2009 12:00:00 AM	478.4876	3076675	16.06051	60.3689	13.12273	1.751096
4	7/8/2009 12:00:00 AM	239.6411	4618364	12.84818	39.8063	8.444844	1.845572

Figura 32: Marca de água com logótipo do CEB na folha de impressão da tabela.



ID	SampleDate	Area	Total Area	Length	Perimeter	Width	Shape Factor
2	6/3/2009 12:00:00 AM	456.3076	4739668	20.54276	74.05266	12.00799	2.529415
3	6/8/2009 12:00:00 AM	656.5776	4377403	18.6075	80.9121	12.87	2.290174
5	6/10/2009 12:00:00 AM	229.6752	4208798	12.71533	42.70053	8.296257	2.066079
6	6/12/2009 12:00:00 AM	760.7706	4470288	21.86691	92.87358	15.13909	2.388824
7	6/12/2009 12:00:00 AM	760.7706	4470288	21.86691	92.87358	15.13909	2.388824
8	6/17/2009 12:00:00 AM	313.2339	2500860	16.64443	54.0398	10.39688	2.285902
9	6/26/2009 12:00:00 AM	931.2346	5091991	23.61851	91.82867	18.86748	1.914897
10	6/29/2009 12:00:00 AM	607.1665	2801466	21.40809	75.77592	16.20952	1.890046
1	7/1/2009 12:00:00 AM	478.4876	3076675	16.06051	60.3689	13.12273	1.751096
4	7/8/2009 12:00:00 AM	239.6411	4618364	12.84818	39.8063	8.444844	1.845572

Figura 33: Ficheiro *PDF* da tabela com logótipo do CEB.

CASO DE ESTUDO E PUBLICAÇÃO DA PLATAFORMA ONLINE

4.1 CASO DE ESTUDO

Para testar a plataforma online foram processadas imagens de amostras obtidas em reator laboratorial, em duas experiências independentes (E1 e E2), provenientes do estudo realizado e publicado por Mesquita *et al.* (2016). As condições experimentais do reator variaram na carga orgânica (CA) e na razão de quantidade de alimento por microrganismo (F/M) aplicadas. Neste estudo averiguou-se a possibilidade de usar análise de imagem quantitativa para prever parâmetros da qualidade do efluente através do método dos mínimos quadrados, evitando-se assim os métodos tradicionais que por norma demoram mais tempo e são mais dispendiosos.

Para este caso de estudo o reator foi monitorizado durante 35 dias (03 de junho a 08 de julho de 2009) para E1, enquanto que a E2 decorreu durante 42 dias (01 de Junho a 13 de Julho de 2010). Os parâmetros analisados pelos métodos convencionais foram:

- índice volumétrico de lamas (IVL) reator;
- sólidos suspensos totais (SST);
- carência química de oxigénio (CQO) entrada (*in*) e saída (*out*);
- azoto amoniacal ($N-NH_4^+$) de entrada (*in*) e saída (*out*);
- nitrato ($N-NO_3^-$) de saída (*out*) .

Nas figuras 34 - 38 encontram-se representadas as variações dos parâmetros analisados durante o período de monitorização para a E1 e E2.

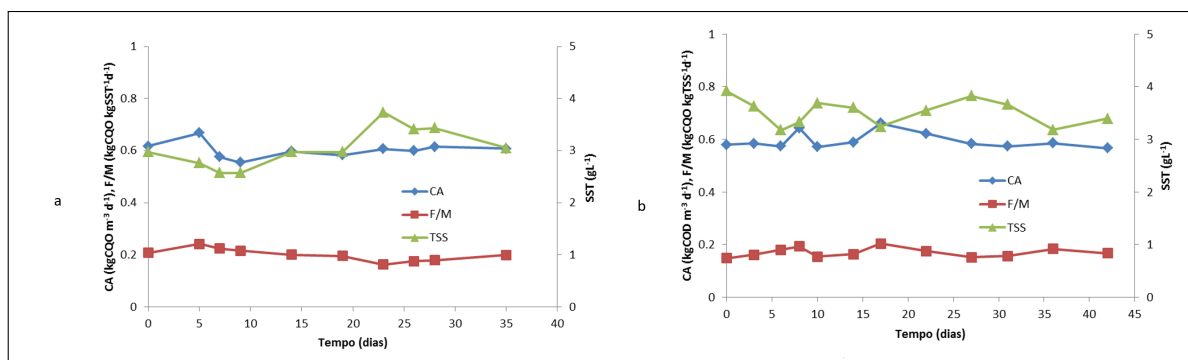


Figura 34: Monitorização da CA, F/M, SST para E1 (a) e E2 (b).

Pela observação da figura 34 verifica-se que não há grandes variações dos parâmetros avaliados. No caso de E1, a CA e a F/M foram bastante mais elevadas no início da experiência ($2.7 \text{ kg}_{\text{CQO}} \text{ m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ e $0.9 \text{ kg}_{\text{CQO}} \text{ kg}_{\text{TSS}} \text{ d}^{-1}$, respetivamente) e consequentemente reduzidas para $0.6 \text{ kg}_{\text{CQO}} \text{ m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ e $0.2 \text{ kg}_{\text{CQO}} \text{ kg}_{\text{TSS}} \text{ d}^{-1}$, com o objetivo de verificar as variações morfológicas durante a monitorização. No caso do E2, a CA e a F/M não variaram desde o início da experiência. Relativamente aos SST, mantiveram-se sempre entre 3 e 4 g L^{-1} tanto na E1 como na E2.

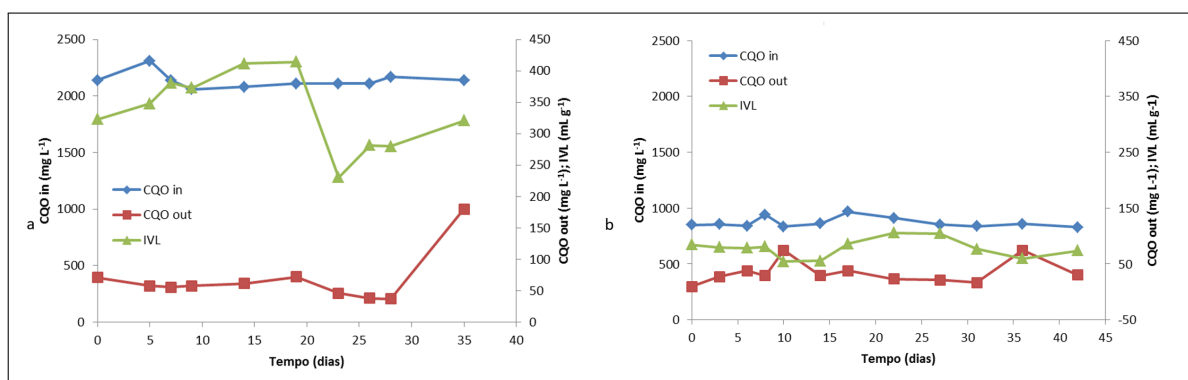


Figura 35: Monitorização da CQO in, CQO out e IVL para E1 (a) e E2 (b).

Verifica-se pela figura 35 que a CQO de entrada no caso da E1 foi muito superior à da E2. Relativamente à CQO de saída, as concentrações mantiveram-se constantes e baixas ao longo do tempo. Apenas houve uma diminuição da eficiência de remoção da CQO no último dia de monitorização da E1 em que se obteve uma CQO_{out} de 180 mg L^{-1} .

Um estudo dirigido por Jenkins permitiu concluir que para um valor de IVL acima de 150 mg L^{-1} estão reunidas as condições para a formação de *bulking* filamentoso [1]. Assim, através da análise da figura 35a é possível verificar que o IVL se encontrou sempre a cima deste valor, pelo que a eficiência do reator em relação à sedimentabilidade das lamas esteve

comprometida. Por outro lado, na E2 o IVL manteve-se sempre abaixo dos 150 mgL^{-1} demonstrando uma boa decantação das lamas.

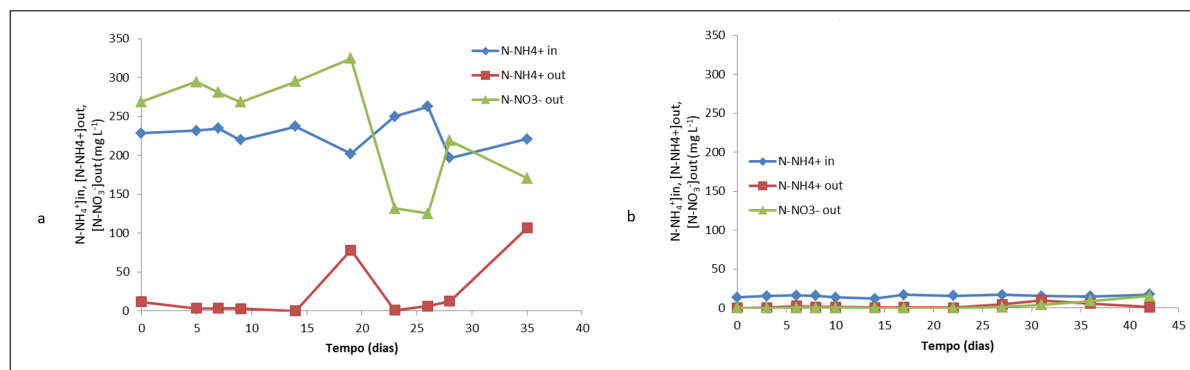


Figura 36: Monitorização do $\text{N-NH}_4^+ \text{ in}$, $\text{N-NH}_4^+ \text{ out}$, $\text{N-NO}_3^- \text{ out}$ para E1 (a) e E2 (b).

Pela análise da figura 36a verifica-se que existe uma elevada concentração de $\text{N-NH}_4^+ \text{ in}$ na alimentação do reator durante a E1 tal como de CQO *in* (figura 36a). Assim, as concentrações de saída de $\text{N-NH}_4^+ \text{ out}$ mantiveram-se também mais elevadas na E1 do que na E2. No final da E1, o $\text{N-NH}_4^+ \text{ out}$ aumentou, indicando que o desempenho do sistema biológico foi afetado bem como a comunidade de bactérias nitrificantes. Também se verifica que o $\text{N-NO}_3^- \text{ out}$ foi bastante mais elevado na E1 embora apresentando uma tendência decrescente após o dia 19 de operação, o que pode estar relacionado com o ligeiro aumento da concentração de $\text{N-NH}_4^+ \text{ out}$.

O tamanho dos flocos é importante para o desempenho do reator, por isso a sua proporção não deve sofrer grandes alterações. A figura 37 apresenta resultados obtidos por análise de imagem em que os agregados foram divididos por classes:

- pequenos ($\text{Deq} < 25 \mu\text{m}$);
- intermédios ($25 \mu\text{m} < \text{Deq} < 250 \mu\text{m}$);
- grandes ($\text{Deq} > 250 \mu\text{m}$).

Verifica-se na figura 37a que durante a E1 há grandes oscilações nas dimensões dos flocos. No entanto, os flocos pequenos prevaleceram, quer dispersos no meio líquido, quer ligados às bactérias filamentosas. Durante a E2, os resultados revelam o predomínio de flocos de dimensões intermédias, assim como percentagens residuais de agregados com dimensões mais elevadas, o que se encontra de acordo com as condições estáveis de operação do reator.

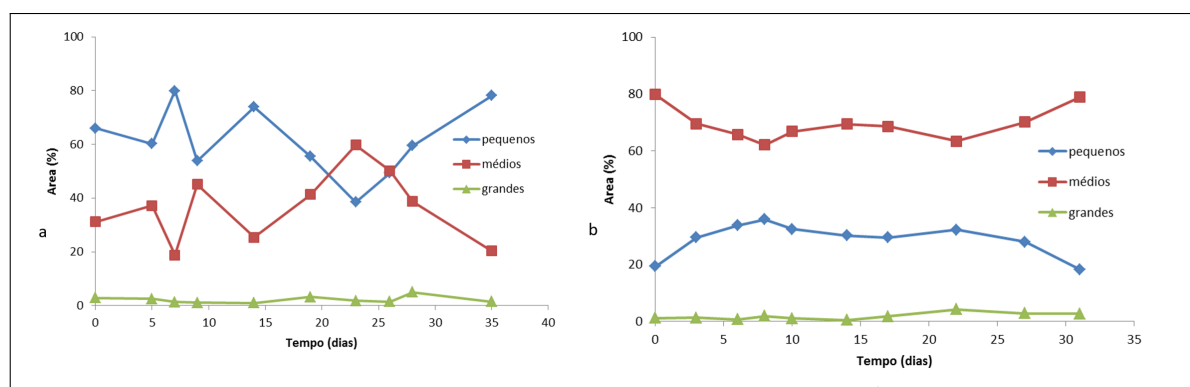


Figura 37: Monitorização da % área de flocos pequenos, médios e grandes para E1 (a) e E2 (b).

A figura 38 apresenta as variações do comprimento total dos filamentos corrigidas pelo volume (CF/Vol), e da área total corrigida pelo volume (AT/Vol) também obtidos por análise de imagem. Por comparação entre a E1 (figura 38a) e E2 (figura 38b), verifica-se a existência de um problema de *bulking* filamentoso na E1 uma vez que a população de bactérias filamentosas é substancialmente superior à população formadora de flocos, e que o CT/Vol encontra-se perto de $1000 \text{ mm}\mu\text{L}^{-1}$. Na figura 38b verifica-se um correto balanceamento entre as populações bacterianas formadoras de flocos e de bactérias filamentosas.

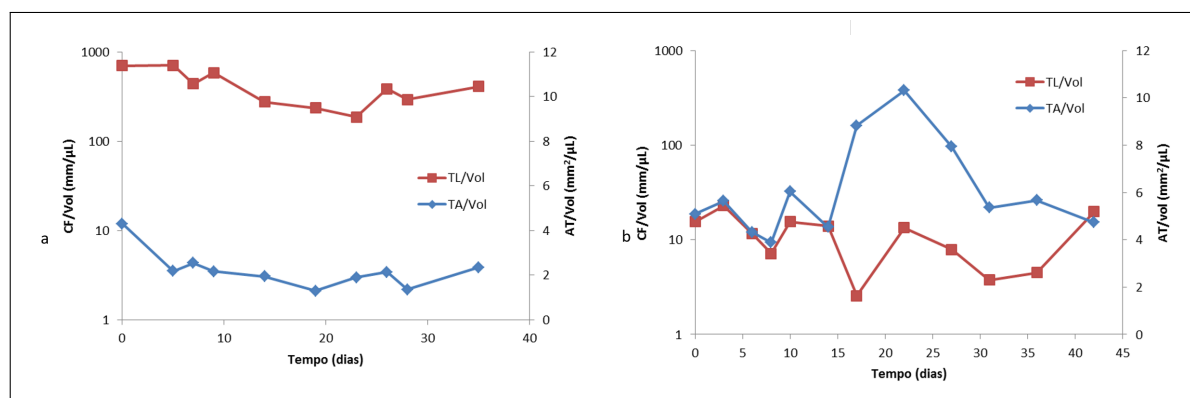


Figura 38: Monitorização do CF/Vol e AT/Vol para E1 (a) e E2 (b).

A plataforma online foi testada com 1241 imagens, sendo possível exportar as figuras 39-40, para a área total de flocos e comprimento total de filamentos respetivamente. Comparando a figura 38 com as figura 39 e 40, é possível verificar que possuem a mesma tendência para a maior parte dos dias de amostra. No entanto é de salientar que apresentam diferentes declives entre si, uma vez que as unidades métricas não são as mesmas e a diferença da tendência para alguns dias da amostra, verifica-se pelo facto de ter sido um número significativamente baixo. Pela a análise da figura 39, é possível verificar que a E2

possui mais área de flocos que a E1, o que comprova o que foi referido na análise da figura 37.

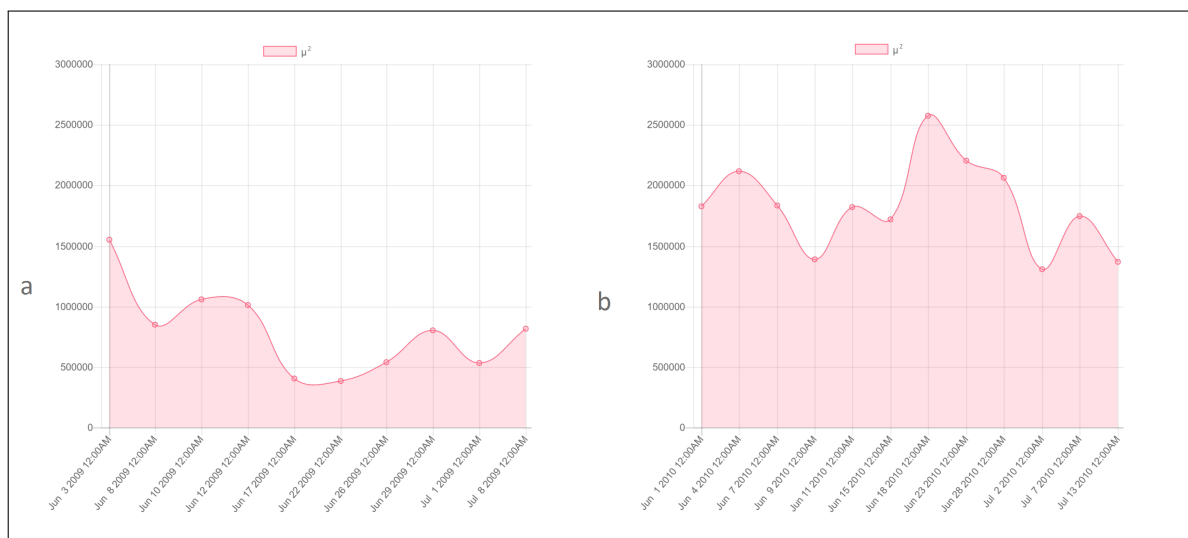


Figura 39: Resultados para a Área Total VS Tempo para E1 (a) e E2 (b).

A figura 40 comprova que existe um problema de *bulking* filamentos no E1, devido ao grande número de filamentos em comparação com o E2.

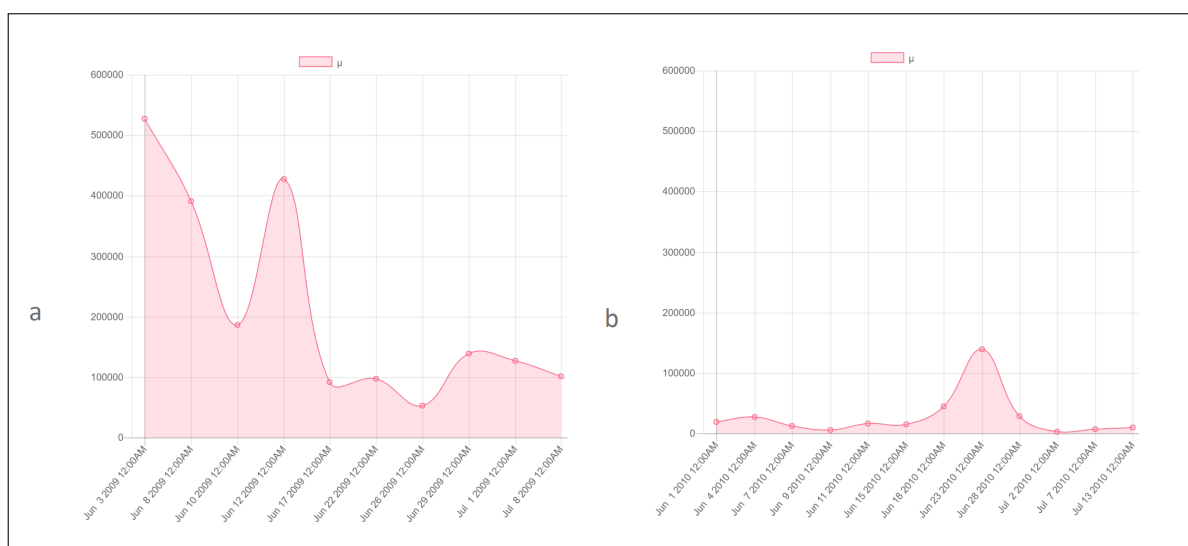


Figura 40: Resultados para o Comprimento total dos filamentos VS Tempo para E1 (a) e E2 (b).

4.2 OTIMIZAÇÃO DA PLATAFORMA ONLINE

No momento de testar a plataforma online para o caso de estudo, verificou-se que esta não estava preparada para a análise de uma grande quantidade de imagens, uma vez o tempo despendido para introdução dos resultado na base de dados era muito elevado. Este problema não era perceptível na fase de desenvolvimento, em que apenas era necessário processar 5 a 6 imagens, não havendo muita informação para inserir na base de dados. O algoritmo foi otimizado e a inserção de resultados na base de dados deixou de ser considerado um obstáculo.

Este estudo permitiu detectar um possível problema futuro na plataforma relacionado com o espaço do servidor. Neste teste à plataforma, apenas se usou uma amostra referente a um intervalo de tempo de 10 dias, tendo sido analisadas 1241 imagens. Antes de cada imagem ser tratada ocupava em média 1.2 *megabytes*, correspondendo a um total 1.6 *giga-bytes*. Depois do tratamento, a amostra ficou com 3723 imagens, sendo que cada imagem ocupava em média 0.1 *megabytes*, o que corresponde a 400 *megabytes* totais. Assim, as imagens processadas ocupam em média 12 vezes menos do que as imagens originais. Mesmo que estas fossem redimensionadas perderiam qualidade e o espaço ganho acabaria por não ser uma diferença significativa. Contudo, as imagens devem ser alojadas no servidor, para que o utilizador tenha a noção de que o seu pedido de análise de imagem foi bem tratado.

Por isso, futuramente é necessário limitar a quantidade de pedidos criados e não processados, uma vez que estes ocupam muito espaço no servidor. Além disso, seria necessário limitar o espaço a que cada utilizador tem acesso.

4.3 PUBLICAÇÃO DA PLATAFORMA ONLINE

A publicação da plataforma foi um dos objetivos principais desta tese de mestrado. Para publicar a plataforma, foi necessário preparar a base de dados. Uma vez que na fase de desenvolvimento, a base de dados não possuía nenhum administrador nem *password* associado, foram criados esses parâmetros e introduzidas no ficheiro *web.config* da plataforma.

A compilação do projeto foi feita através da ferramenta *Publish* do *Visual Studio* 2015. Esta ferramenta compila todos os modelos e controladores tornando-os inacessíveis, protegendo assim as funções do projeto. O resultado final da compilação da plataforma está representado na figura 41.

 Content	26/01/2017 15:54	Pasta de ficheiros	
 fonts	26/01/2017 15:54	Pasta de ficheiros	
 Scripts	26/01/2017 15:54	Pasta de ficheiros	
 Views	26/01/2017 15:54	Pasta de ficheiros	
 ApplicationInsights.config	07/09/2016 15:41	XML Configuratio...	6 KB
 favicon.ico	22/12/2016 13:03	Ícone	3 KB
 packages.config	19/12/2016 19:52	XML Configuratio...	5 KB
 PrecompiledApp.config	26/01/2017 15:52	XML Configuratio...	1 KB
 Web.config	26/01/2017 14:49	XML Configuratio...	7 KB

Figura 41: Plataforma compilada e pronta para ser instalada no servidor

O projeto compilado e sua respetiva base de dados foi publicada no servidor do CEB, onde teve de ser instalada a versão do *Matlab Runtime R2016a (9.0.1)* para o executável do programa "Flocos e Filamentos" funcionar. A plataforma ficou com o domínio público <https://www.sysbio.uminho.pt/>, contudo ainda está numa fase *beta*, pelo que o seu acesso deve ser restringido a um número limitado utilizadores.

CONCLUSÕES E TRABALHO FUTURO

Com esta dissertação de mestrado, o programa “Flocos e Filamentos” após incorporação das funcionalidades do programa “Parâmetros” e respetiva otimização está mais completo. Este programa apenas tratava as imagens, necessitando de recorrer ao programa “Parâmetros” para produzir resultados para flocos ou para filamentos. Agora através de uma só execução, este programa produz imagens tratadas e resultados para flocos e filamentos.

A compilação deste programa e incorporação na plataforma online, permitiu para além de disponibilizar na *internet* o resultado de anos de investigação realizado no CEB, dar uma imagem mais atualizada e novas funcionalidades, como por exemplo:

- Alojamento de resultados por ETAR/Reator;
- Produção de gráficos e tabelas de resultados;
- Exportar resultados;
- Visualizar resultados por ETAR/Reator ao longo tempo.

A tendência é cada vez mais existirem utilizadores a usar dispositivos *mobile* em relação a computadores, por isso na construção da plataforma usaram-se *frameworks* e bibliotecas *javascript* que se adaptam consoante o ecrã do utilizador. Com esta integração é possível que os utilizadores usufruam das funcionalidades da plataforma no seu *tablet* ou *smartphone*.

Com o teste da plataforma online, foi possível verificar que as alterações nos programas “Flocos e Filamentos” não alteram a sua capacidade de monitorizar uma ETAR/Reator.

A plataforma online necessita de mais desenvolvimento, como por exemplo:

- Introdução de uma confirmação de *email*, para evitar criação de contas falsas;
- Construção de documentação;
- Implementação do cálculo do Deq;
- Introdução de *progress bars*, para os processo que são mais demorados;

- Limitar o espaço que cada utilizador tem acesso;
- Exportar resultados com limite de tempo imposto pelo utilizador;
- Criação de uma área de administrador, onde os utilizadores da plataforma cedessem os seus resultados, para que futuramente o administrador pudesse usar esses resultados para investigação;
- Introdução de metodologias de *machine learning*, para conseguir prever parâmetros da qualidade do efluente da ETAR/Reator.

Para concluir, os objetivos que tinham sido propostos na dissertação de mestrado foram cumpridos com a publicação da plataforma online, contudo é necessário que o desenvolvimento não acabe com esta dissertação.

BIBLIOGRAFIA

- [1] D. Jenkins, *Manual on the causes and control of activated sludge bulking, foaming, and other solids separation problems*. Boca Raton, Fla: Lewis Publishers, 2004.
- [2] "Statista - The Statistics Portal for Market Data, Market Research and Market Studies," <https://www.statista.com/>, accessed: 2016-07-01.
- [3] "ASP.NET MVC Overview," [https://msdn.microsoft.com/en-us/library/dd381412\(v=vs.108\).aspx](https://msdn.microsoft.com/en-us/library/dd381412(v=vs.108).aspx), accessed: 2016-07-01.
- [4] A. L. P. D. Amaral, "Image analysis in biotechnological processes: applications to wastewater treatment," 2003.
- [5] A. L. Amaral and E. C. Ferreira, "Activated sludge monitoring of a wastewater treatment plant using image analysis and partial least squares regression," *Analytica Chimica Acta*, vol. 544, no. 1-2 SPEC. ISS., pp. 246–253, 2005.
- [6] S. Halliday, *The great stink of London : Sir Joseph Bazalgette and the cleansing of the Victorian capital.*, 2001.
- [7] A. Wheeler, "Fish-life and pollution in the lower Thames: A review and preliminary report," *Biological Conservation*, vol. 2, no. 1, pp. 25–30, 1969.
- [8] D. Jenkins, *Activated sludge : 100 years and counting*. London: IWA Pub, 2014.
- [9] D. Orhon, *Modelling of activated sludge systems*. Lancaster, Pa: Technomic Pub. Co, 1994.
- [10] J. Pato, *História das políticas públicas de abastecimento e saneamento de águas em Portugal*. Lisboa: Entidade Reguladora dos Serviços de Águas e Resíduos, 2011.
- [11] D. P. Mesquita, O. Dias, a. L. Amaral, and E. C. Ferreira, "A Comparison between bright field and phase-contrast image analysis techniques in activated sludge morphological characterization." vol. 16, no. 2, pp. 166–74, 2010.
- [12] D. P. Mesquita, A. L. Amaral, and E. C. Ferreira, "Identifying different types of bulking in an activated sludge system through quantitative image analysis," *Chemosphere*, vol. 85, no. 4, pp. 643–652, 2011.

- [13] A. L. P. do Amaral, "Desenvolvimento de Técnicas de Análise de Imagem para Aplicação em Processos Biotecnológicos," 1998.
- [14] D. P. Mesquita, A. L. Amaral, and E. C. Ferreira, "Activated sludge characterization through microscopy: A review on quantitative image analysis and chemometric techniques," *Analytica Chimica Acta*, vol. 802, pp. 14–28, 2013.
- [15] S. Q. Aziz, H. A. Aziz, M. S. Yusoff, and M. J. K. Bashir, "Landfill leachate treatment using powdered activated carbon augmented sequencing batch reactor (SBR) process : Optimization by response surface methodology," *Journal of Hazardous Materials*, vol. 189, no. 1-2, pp. 404–413, 2011.
- [16] W. S. Al-rekabi, H. Qiang, and W. W. Qiang, "Review on Sequencing Batch Reactors," vol. 6, no. 1, pp. 11–19, 2007.
- [17] A. Mahvi, "Sequencing batch reactor: a promising technology in wastewater treatment," vol. 6, no. 1, pp. 79–90, 2008.
- [18] M. Singh and R. K. Srivastava, "Sequencing batch reactor technology for biological wastewater treatment : a review," no. September 2010, pp. 3–13, 2011.
- [19] B. S. Akin and A. Ugurlu, "Monitoring and control of biological nutrient removal in a Sequencing Batch Reactor," vol. 40, pp. 2873–2878, 2005.
- [20] D. P. B. Mesquita, "Monitorização e Análise de Imagem de um Reactor Descontínuo Sequencial de Lamas Activadas," p. 105, 2006.
- [21] C. J. S. C. M.-A. J. Obaja D, Mace S, "Nitrification, denitrification and biological phosphorus removal in piggery wastewater using a sequencing batch reactor," no. 1, pp. 87–103–11, 2003.
- [22] E. Liwarska-Bizukojc and M. Bizukojc, "Digital image analysis to estimate the influence of sodium dodecyl sulphate on activated sludge flocs," *Process Biochemistry*, vol. 40, no. 6, pp. 2067–2072, 2005.
- [23] A. L. Amaral, D. P. Mesquita, and E. C. Ferreira, "Automatic identification of activated sludge disturbances and assessment of operational parameters," *Chemosphere*, vol. 91, no. 5, pp. 705–710, 2013.
- [24] D. P. Mesquita, O. Dias, A. M. A. Dias, A. L. Amaral, and E. C. Ferreira, "Correlation between sludge settling ability and image analysis information using partial least squares," *Analytica Chimica Acta*, vol. 642, no. 1-2, pp. 94–101, 2009.
- [25] "What is a digital Image? - Learn ImageJ," <https://sites.google.com/site/learnimagej/image-processing/what-is-a-digital-image>, accessed: 2016-07-01.

- [26] M.-n. Pons and H. Vivier, "Biomass Quantification by Image Analysis," vol. 66, 1999.
- [27] D. P. Mesquita, A. L. Amaral, and E. C. Ferreira, "Estimation of effluent quality parameters from an activated sludge system using quantitative image analysis," *Chemical Engineering Journal*, vol. 285, pp. 349–357, 2016.
- [28] D. P. Mesquita, O. Dias, a. L. Amaral, and E. C. Ferreira, "Evaluation of activated sludge systems by image analysis procedures," *Proceedings of the International Symposium on Sanitary and Environmental Engineering : SIDISA 08*, 2008.
- [29] Y. P. Ginoris, A. L. Amaral, A. Nicolau, M. A. Z. Coelho, and E. C. Ferreira, "Recognition of protozoa and metazoa using image analysis tools, discriminant analysis, neural networks and decision trees," *Analytica Chimica Acta*, vol. 595, no. 1-2 SPEC. ISS., pp. 160–169, 2007.
- [30] T. Collins, "ImageJ for microscopy. Biotechniques, 43 (1), 25-30." *Biotechniques*, vol. 43, no. 1, pp. 25–30, 2007.
- [31] N. Otsu, "A threshold selection method from gray-level histograms, *IEEE Transactions on Systems, Man. and Cybernetics*, 1:9: 62-66." 1979.
- [32] R. Jenné, E. N. Banadda, I. Y. Smets, and J. F. Van Impe, "Monitoring activated sludge settling properties using image analysis," vol. 50, pp. 281–285, 2004.
- [33] v. B. K. J. R. v. I.-J. Cenens, C., "On the Development of a Novel Image Analysis Technique to Distinguish Between Flocs and Filaments in Activated Sludge Image," vol. I, pp. 282–289, 2001.
- [34] "About Bootstrap," <http://getbootstrap.com/about/>, accessed: 2016-07-01.
- [35] "Top 5 Reasons to use Bootstrap - BootstrapBay," <https://bootstrapbay.com/blog/reasons-to-use-bootstrap/>, accessed: 2016-07-01.
- [36] "Posts containing 'bootstrap' - Stack Overflow," 2016-01-10. [Online]. Available: <http://stackoverflow.com/search?q=bootstrap>
- [37] "Introduction to the C# Language and the .NET Framework," <https://msdn.microsoft.com/en-us/library/z1zx9t92.aspx>, accessed: 2016-07-01.
- [38] J. Dickson and J. Dickson, "Xamarin Mobile Development," 2013.
- [39] "MATLAB Compiler Documentation," <https://www.mathworks.com/help/compiler/?requestedDomain=www.mathworks.com>, accessed: 2016-07-01.
- [40] "MATLAB Compiler SDK - MATLAB," <https://www.mathworks.com/products/matlab-compiler-sdk.html>, accessed: 2016-07-01.

- [41] C. A. Glasbey, *Image analysis for the biological sciences*. Chichester New York: J. Wiley, 1995.
- [42] J. Russ, *The image processing handbook*. Boca Raton: CRC Press, 1995.
- [43] A. Walsby and A. Avery, "Measurement of filamentous cyanobacteria by image analysis," *Journal of Microbiological Methods*, vol. 26, pp. 11 – 20, 1996.
- [44] "Carousel Bootstrap," <https://v4-alpha.getbootstrap.com/components/carousel/>, accessed: 2016-12-15.
- [45] "Chart.js | Documentation," <http://www.chartjs.org/docs/>, accessed: 2016-12-15.
- [46] "Bootstrap-datepicker — documentation," <https://bootstrap-datepicker.readthedocs.io/en/latest/>, accessed: 2016-12-15.
- [47] "DataTables," <https://datatables.net/>, accessed: 2016-12-15.

